Mémoire de recherche forestière n° 104

Méthodes pour sélectionner des peupliers résistants au chancre hypoxylonien

par M.-J. MOTTET

Québec

Marie-Josée MOTTET est ingénieure forestière, diplômée de l'Université Laval depuis 1983. En 1991, ce même établissement lui décernait le titre de maître ès sciences. Elle a travaillé pendant près de quatre ans au Service de protection contre les insectes et les maladies. Elle est à l'emploi du Service de l'amélioration des arbres depuis avril 1989, à titre de chargée de recherche en sélection d'arbres résistants aux maladies.

Depuis de nombreuses années, chacun des Mémoires et des autres rapports publiés par la Recherche forestière est révisé par un comité *ad hoc* d'au moins trois membres recrutés aussi bien à l'intérieur du Ministère que dans le milieu universitaire, la fonction publique fédérale ou les autres milieux de la recherche. Les responsables de la Recherche remercient les scientifiques qui ont accepté bénévolement de revoir le texte présenté ici et de participer ainsi à la diffusion des résultats des recherches menées au ministère des Forêts du Québec.

Les publications de la Recherche forestière sont produites et diffusées à même les budgets de recherche et de développement, comme autant d'étapes essentielles à la réalisation de chaque projet ou expérience. En conséquence, ces documents sont, par définition, à *tirage limité* et à *diffusion restreinte*. Adresser toute demande au:

Service du transfert de technologie
Ministère des Forêts du Québec
2700, rue Einstein
SAINTE-FOY (Québec)
Canada G1P 3W8

92-04885/

Méthodes pour sélectionner des peupliers résistants au chancre hypoxylonien

MOTTET, M.-J., 1992. *Méthodes pour sélectionner des peupliers résistants au chancre hypoxylonien.* Gouv. du Québec, min. des Forêts, Dir. de la recherche, Mémoire de recherche forestière n° 104.

Errata

Page 19, Figure 7	De gauche à droite : extraits témoins avec ascospores, extraits toxiques seuls, extraits toxiques avec des ascospores de *Hypoxylon mammatum*.
Page 21, Figure 8	(A) : figure du haut
Page 22, Figure 9	(B) : figure du bas.

Méthodes pour sélectionner des peupliers résistants au chancre hypoxylonien *

par

Marie-Josée MOTTET, ing.f., M.Sc.

Mémoire de recherche forestière
n° 104

Gouvernement du Québec
Ministère des Forêts
Direction de la recherche
1992

* Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) à l'École des Gradués de l'Université Laval en juillet 1991 et légèrement remanié pour publication.

Ce texte est un rapport partiel du projet de recherche numéro 021180 :
« Sélection de clones et de semis de peupliers résistants aux maladies. »

ISBN 2-550-22814-6
ISSN 1183-3912
Dépôt légal - Premier trimestre 1992
Bibliothèque nationale du Québec
Bibliothèque nationale du Canada
© Gouvernement du Québec 1992

Avant-propos

Mes remerciements s'adressent à monsieur Michel Dessureault, ing.f., *Ph.D.*, de la Faculté de foresterie et de géomatique de l'Université Laval, qui a supervisé la conduite de mes travaux de maîtrise et a su me prodiguer de judicieux conseils. Je remercie également monsieur Richard Bélanger, *Ph.D.*, du département de Phytologie de l'Université Laval, qui, par sa disponibilité et son enthousiasme, m'a été d'une aide précieuse tout au long de la réalisation de cette recherche.

Je remercie particulièrement madame Danielle Lamontagne, technicienne de laboratoire, qui a participé de près à la réalisation des travaux, et monsieur Rock Ouimet, ing.f., M.Sc., pour ses nombreuses suggestions pendant les analyses statistiques; tous deux sont du ministère des Forêts du Québec.

Ma reconnaissance s'adresse aussi à monsieur Gilles Vallée, ing.f., Doct.-Ing., du ministère des Forêts, pour son appui et sa collaboration, et à monsieur Louis Bernier, *Ph.D.*, de la Faculté de foresterie et de géomatique, qui a participé à l'examen de cette thèse.

Je remercie également monsieur Raymond Castonguay, technicien en arts graphiques, pour la réalisation des figures, de même que monsieur Fabien Caron, M.A., agent d'information, pour la révision finale du manuscrit et son édition.

Résumé

Au Québec, le chancre causé par *Hypoxylon mammatum* occasionne de sérieux dommages dans les peuplements naturels de peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*) et de peuplier à grandes dents (*Populus grandidentata*). Le succès des reboisements pourrait être compromis si l'on plante des peupliers de la section Leuce, sensible à ce champignon. Dans le cadre de travaux d'amélioration génétique de ces peupliers, l'auteure a étudié l'utilisation potentielle de différentes techniques pour sélectionner des plants résistants ou tolérants à *H. mammatum*; elle a testé trois types de méthodes sur six clones de peuplier. Dans un premier temps, des plants ont été inoculés en serre avec le mycélium de trois isolats de *H. mammatum*; ces mêmes clones ont également été inoculés en pépinière. Puis on a réalisé, sur des feuilles détachées, des bioessais avec des extraits composés de métabolites toxiques produits en culture par trois isolats de *H. mammatum*. Finalement, on a effectué des inoculations consistant, soit en l'application d'ascospores en suspension dans les mêmes extraits toxiques, soit en l'application d'extraits seuls. Par la méthode d'inoculation avec le mycélium, on a décelé, après onze semaines, des différences significatives dans la longueur des chancres entre les six clones de peuplier. Le clone de *Populus alba* et le clone issu de l'hybridation entre *P. tremuloides* et *P. alba* se sont avérés plus résistants que les quatre clones de *P. tremuloides*, mais on n'a décelé que peu de différences entre ces derniers. Les réactions des clones à l'application d'extraits toxiques sur les feuilles n'ont pu être corrélées à la sensibilité des clones en serre. Cependant, la seule réaction importante sur les feuilles a été observée chez le clone montrant le plus long chancre 15 mois après l'inoculation en pépinière. L'application d'extraits toxiques a permis d'induire des nécroses sur les tiges et d'obtenir des infections avec des ascospores. Ces différentes méthodes pourraient être utilisées de façon complémentaire pour le tri préliminaire des clones résistants ou tolérants à *H. mammatum*.

Mots-clés : *Hypoxylon mammatum*, chancre hypoxylonien, peuplier, sélection pour la résistance

Abstract

Screening methods for poplar resistance to hypoxylon canker. *In Québec, the* Hypoxylon mammatum *canker causes serious damages in trembling and big-tooth aspen (*Populus tremuloides, P. grandidentata*) natural stands. The success of reforestation projects could be jeopardized when poplars from the section Leuce, sensitive to this fungus, are planted. While working on poplar genetic improvement, the author studied the potential use of different techniques to select plants that are resistant or tolerant to* H. mammatum*; she tested three types of methods on six poplar clones. First, plants were inoculated in the greenhouse with* H. mammatum *mycelium; the same clones were also inoculated in the nursery. Then, bioassays were done on detached leaves, using toxic metabolites produced in culture by* H. mammatum. *Finally, inoculations were tried using an application of ascospores suspended in the same toxic extracts. Using the mycelium inoculation method, significant differences in the length of the canker were detected between the six poplar clones after eleven weeks. The* Populus alba *clone and the* P. tremuloides X P. grandidentata *hybrid were shown to be more resistant than the four* P. tremuloides *clones, but very little difference was measured between the latter. Reactions of the clones to the application of toxic extracts on the leaves could not be correlated to the sensitivity of the greenhouse clones. Nevertheless, the only important reaction on the leaves was observed on the clone that showed the longest canker 15 months after inoculation in the nursery. Applying toxic extracts lead to stem necroses and getting infections with ascospores. These different methods could be used for a preliminary screening of the clones that are resistant or tolerant to* Hypoxylon mammatum.

Key-words : Hypoxylon mammatum, *hypoxylon canker, poplar, screening for resistance*

Table des matières

Avant-propos v

Résumé vii

Abstract vii

Liste des tableaux xi

Liste des figures xiii

Introduction générale 1

Revue de littérature 3
Infections artificielles 3
Variations génétiques de la résistance 3
Production de métabolites par le champignon 4
Le stress hydrique 5
Défense de l'hôte 5

Matériel et méthodes 7
Inoculations artificielles avec du mycélium 7
Matériel végétal 7
Préparation de l'inoculum 7
Technique d'inoculation 7
Mesures et analyses 8
Bioessais avec les filtrats toxiques 8
Matériel végétal 8
Préparation des filtrats 8
Bioessais sur les feuilles 8
Mesures et analyses 8
Inoculations artificielles avec des ascospores et des filtrats toxiques 9
Matériel végétal 9
Préparation de l'inoculum 9
Techniques d'inoculation 9
Mesures et analyses 9

Résultats 11
Inoculations artificielles avec du mycélium 11
Bioessais avec les filtrats toxiques 17
Inoculations avec des ascospores et des filtrats toxiques 20

Discussion 23

Conclusion 25

Bibliographie 27

Annexe A 33

Annexe B 34

Annexe C 35

Liste des tableaux

Tableau 1 Longueur des nécroses sur les six clones de peuplier inoculés à la pépinière de Lotbinière avec l'isolat Lotbinière de *Hypoxylon mammatum* 12

Tableau 2 Analyse de variance de mesures répétées pour la variable longueur des nécroses prises sur les plants de six clones de peuplier ayant subi deux types d'arrosage et inoculés avec *Hypoxylon mammatum* en serre 13

Tableau 3 Nombre de plants en serre avec différents symptômes et réisolement de *Hypoxylon mammatum* 4 semaines après l'inoculation de six clones de peuplier 19

Liste des figures

Figure 1 Potentiel hydrique moyen (± erreur-type) des plants de six clones de peuplier inoculés en serre avec *Hypoxylon mammatum* 12

Figure 2 Pourcentage de semis avec des nécroses localisées aux points d'inoculation du haut (A) et du bas (B) de la tige chez six clones de peuplier, 4 semaines et 11 semaines après l'inoculation avec *Hypoxylon mammatum* 14

Figure 3 Progression de la longueur moyenne des nécroses entre 2 et 11 semaines à la suite de l'inoculation au haut (A) et au bas (B) de la tige de six clones de peuplier avec *Hypoxylon mammatum* 15

Figure 4 Progression de la longueur moyenne des nécroses entre 2 et 11 semaines à la suite de l'inoculation de six clones de peuplier avec les isolats Trécesson (A), Dequen (B) et Lotbinière (C) de *Hypoxylon mammatum* 16

Figure 5 Nécroses localisées induites par l'application de filtrats de milieux de culture de trois isolats de *Hypoxylon mammatum* sur les feuilles du clone D (*Populus tremuloides*). La flèche indique l'inoculation témoin 17

Figure 6 Diamètre des nécroses à la suite de l'application d'extraits, dissous dans le méthanol, de milieu de culture de trois isolats de *Hypoxylon mammatum* (A) et d'extraits dissous dans l'eau, de l'isolat Trécesson (B) sur six clones de peuplier 18

Figure 7 Réactions typiques des tiges du clone D de *Populus tremuloides* à la suite de l'application de trois traitements: extraits toxiques avec les ascospores de *Hypoxylon mammatum* (A), extraits toxiques seuls (B) et extraits témoins avec ascospores (C) 19

Figure 8 Cals et zones de réaction formés chez le clone A de *Populus alba* quatre semaines après l'application d'ascospores de *Hypoxylon mammatum* dans les extraits toxiques (grossissement 100X) (A) et chez le clone B (*Populus tremuloides* x *P. alba*) après l'application d'extraits toxiques seuls (400X) (B). Coupes transversales 21

Figure 9 Cals peu abondants et absence de zones de réaction chez le clone D de *Populus tremuloides* 4 semaines après l'application d'extraits toxiques seuls (A) et chez le clone E après l'application d'ascospores de *H. mammatum* dans les extraits toxiques (B) (grossissement 100X). Coupes transversales 22

Introduction

Le champignon *Hypoxylon mammatum* (Wahl.) Miller, responsable d'un chancre au tronc ou aux branches, cause des dommages importants dans les peuplements naturels de peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides* Michx.) et de peuplier à grandes dents (*P. grandidentata* Michx.) au Québec (BENOÎT *et al.* 1982). *Hypoxylon mammatum* est un agent pathogène qu'on rencontre principalement sur les peupliers de la section Leuce, laquelle comprend les espèces suivantes: *P. tremuloides* et *P. grandidentata*, *P. tremula* L. et *P. alba* L. Des dommages importants pourront être causés par cette maladie et il devient important d'utiliser des plants résistants à *H. mammatum* dans les futures plantations de peuplier. Le potentiel de l'amélioration génétique pour la résistance à *H. mammatum* a déjà été démontré mais de façon limitée (MANION et GRIFFIN 1986).

Le cycle de la maladie n'est pas encore bien établi. Les ascospores sont considérées comme la source première d'inoculum mais l'inoculation artificielle avec des ascospores seules n'a jamais permis d'obtenir l'infection des tiges en serre ou au champ. Certains métabolites toxiques produits par le champignon et le stress hydrique semblent jouer un rôle dans le processus d'infection. Ces facteurs devront être considérés lors de la mise au point de méthodes de sélection pour la résistance au chancre hypoxylonien.

L'objectif général de cette étude consistait à évaluer le potentiel de différentes méthodes pour la sélection de peupliers résistants à *H. mammatum*. Pour arriver à cette fin, les travaux comportaient trois volets :

1 – des tests d'inoculation artificielle avec du mycélium;

2 – des bioessais avec les métabolites produits par le champignon;

3 – des tests d'inoculation artificielle avec des ascospores en présence des métabolites toxiques produits par le champignon.

Ces tests ont été effectués dans le but de répondre aux objectifs spécifiques suivants :

1 – développer une technique d'inoculation artificielle en serre avec du mycélium et évaluer l'effet du stress hydrique sur le développement des chancres;

2 – déterminer si les résultats de ces inoculations avec le mycélium permettent de déceler des différences de sensibilité entre les clones et des différences de virulence entre les isolats;

3 – déterminer si les réactions des plants aux métabolites produits par le champignon lors de bioessais sur les feuilles permettent de déceler des différences entre les clones;

4 – déterminer si la présence de métabolites produits par *H. mammatum* permet l'infection des plants en serre lors de l'inoculation avec des ascospores.

Revue de littérature

Le chancre hypoxylonien, décrit comme une des plus importantes maladies du peuplier faux-tremble, a fait l'objet de multiples recherches depuis les 70 dernières années (MANION et GRIFFIN 1986).

Le rôle des facteurs environnementaux dans l'incidence de la maladie a été étudié par plusieurs auteurs (ANDERSON 1964; ANDERSON et MARTIN 1981; ARCHAMBAULT 1982). Les difficultés d'interprétation des résultats de ces travaux pourraient être dues en partie à l'absence de la composante génétique dans ces études (MANION et GRIFFIN 1986). Toutefois, le stress hydrique est le facteur le plus souvent associé à l'incidence de cette maladie (BIER et ROWAT 1962; BAGGA et SMALLEY 1969; BRUCK et MANION 1980a; BÉLANGER *et al.* 1989a). D'autre part, certains travaux sylvicoles ayant pour but de diminuer les dommages dus au chancre hypoxylonien n'ont pas donné de résultats concluants (ANDERSON 1964; ANDERSON et ANDERSON 1968).

Plusieurs interrogations demeurent concernant le cycle de la maladie. On ne connaît pas le rôle exact des ascospores et des conidies et la plupart des essais d'infection artificielle des plants avec ces sources d'inoculum se sont avérés infructueux (BIER et ROWAT 1962; ROGERS et BERBEE 1964; BAGGA et SMALLEY 1974; VALENTINE *et al.* 1975). Le rôle joué par les insectes dans le processus d'infection semble un phénomène peu important dans l'Est américain (MANION 1975).

Infections artificielles

Les conditions spécifiques nécessaires à l'infection sont encore peu connues. BIER (1940), à la suite de différents essais d'inoculation avec des ascospores, des conidies et du mycélium, a observé que l'infection pouvait être induite seulement à la suite de l'application de mycélium dans une blessure. GRUENHAGEN (1945) a été le premier à obtenir des infections à la suite d'inoculation avec des ascospores. Par la suite, tous les essais des autres chercheurs pour infecter les plants avec des ascospores en serre ou au champ se sont avérés infructueux; seule l'application de mycélium dans une blessure exposant le bois a permis un haut taux d'infection (BIER et ROWAT 1962; ROGERS et BERBEE 1964; BAGGA et SMALLEY 1969; VALENTINE *et al.* 1975). ANDERSON et FRENCH (1972) ont noté un taux de germination variant de 0 à 7 % après avoir introduit les ascospores dans des blessures pratiquées sur des boutures de peuplier faux-tremble. Ces auteurs attribuent les difficultés rencontrées dans les essais d'inoculation avec des ascospores au problème d'établissement du mycélium plutôt qu'à celui de la germination des ascospores. BIER et ROWAT (1962) ont émis l'hypothèse que la présence de champignons saprophytes comme *Epiccocum nigrum* Link. dans l'écorce pourrait empêcher l'expansion du mycélium de *H. mammatum*.

Variations génétiques de la résistance

Le potentiel d'amélioration génétique pour la résistance à *H. mammatum* a déjà été étudié pour les différentes espèces de la section Leuce et plus particulièrement pour le peuplier faux-tremble. Par des inoculations artificielles avec du mycélium, ROGERS et BERBEE (1964) ont réussi à infecter différentes espèces de la section Leuce comme *P. tremuloides*, *P. tremula*, *P. grandidentata*, *P. alba* et leurs hybrides. Ils ont observé différents degrés de réaction selon l'espèce et ils en ont conclu que *P. alba* pourrait être une source de résistance importante pour améliorer le peuplier faux-tremble alors que certains clones de *P. tremula* et de *P. grandidentata* montraient une résistance intéressante. PINON (1986) mentionne que *P.* x *canescens* Sm. et les croisements de *P. tremuloides* avec *P. alba* présentent un intérêt pour la résistance à *H. mammatum*.

COPONY et BARNES (1974) ont observé dans la nature des variations clonales dans la fréquence d'apparition des chancres chez le peuplier faux-tremble. Des variations génétiques ont été aussi

observées parmi des clones et des familles de peupliers faux-tremble à la suite d'inoculations artificielles avec du mycélium (VALENTINE *et al.* 1975; FRENCH et HART 1978; GRIFFIN *et al.* 1984). VALENTINE *et al.* (1975) ont démontré que trois types de réactions de l'arbre étaient héritables à des degrés divers: la longueur des chancres, la formation de cals et la mort de la branche inoculée. Ils ont suggéré que ces critères pourraient servir dans des programmes de sélection pour la résistance. MANION et GRIFFIN (1986) ont observé, dans des plantations de peupliers faux-tremble de l'État de New York, que les familles les moins atteintes étaient caractérisées soit par l'apparition tardive des chancres soit par une augmentation lente de l'incidence de la maladie. FALK *et al.* (1989) ont observé des variations importantes dans l'incidence de la maladie et le taux de mortalité chez 29 clones de peuplier faux-tremble en peuplement naturel.

Production de métabolites par le champignon

La possibilité que *H. mammatum* produise un ou plusieurs métabolites toxiques a été suggérée la première fois par HUBBES (1964). Il a démontré que des substances produites par le champignon passant à travers une membrane à dialyse inhibaient la formation de cals chez la plante hôte. D'autres auteurs ont aussi mentionné par la suite que ces métabolites pouvaient jouer un rôle important dans la pathogenèse de cette maladie puisqu'ils induisaient à eux seuls une réaction de l'écorce semblable à celle observée sur les chancres naturels. BAGGA et SMALLEY (1974) ont pu induire des nécroses sur des plants subissant un certain stress hydrique en serre en injectant une suspension d'ascospores, dans un filtrat de milieu de culture de *H. mammatum*, ou en appliquant un tissu imbibé de ce filtrat sur des ascospores déposées dans une blessure exposant le bois. SCHIPPER (1978) a observé des nécroses et l'inhibition de la formation de cals sur des plants de peuplier faux-tremble lorsque les tiges sur lesquelles était pratiquée une fente étaient mises en contact pendant 4 jours avec des extraits de milieu de culture. Cet auteur a aussi observé des nécroses veineuses sur des feuilles dont les pétioles plongeaient dans ces extraits. STERMER *et al.* (1984) ont obtenu des nécroses et l'inhibition de la formation de cals à la suite de l'application d'extraits toxiques sur des feuilles détachées et sur des tiges dont on expose le bois. Ils ont observé que la sensibilité relative des clones était la même dans les deux cas.

Plusieurs études ont démontré que ces toxines présentaient une certaine sélectivité par rapport à l'hôte (SCHIPPER 1978; EHRENSHAFT 1980; STERMER *et al.* 1984; PINON 1984). Plusieurs auteurs ont tenté de développer des bioessais avec ces extraits toxiques de milieu de culture pour la sélection de clones résistants à la maladie. Cependant, ils n'ont pu établir clairement une relation directe entre la sensibilité aux toxines et la sensibilité à *H. mammatum*. BRUCK et MANION (1980b) ont mis au point une technique qui consiste à mesurer le diamètre des nécroses consécutives à l'application de 5 μl d'extraits toxiques sur des feuilles détachées. En testant quatre clones de peuplier faux-tremble, ils ont obtenu une corrélation positive entre le diamètre des lésions et l'incidence de la maladie en nature (r = 0,92). Par contre, EHRENSHAFT (1980), utilisant les mêmes clones mais des isolats différents, a obtenu une corrélation négative. PINON (1984) a conclu qu'il existait une corrélation positive entre la réaction des feuilles dont les pétioles plongeaient dans des extraits toxiques, et la sensibilité naturelle des clones. Cependant il a observé des exceptions parmi ces derniers. PINON (1986) a par la suite démontré que les réactions des clones lors de l'application de filtrats sur des cellules cambiales *in vitro* étaient comparables aux réactions des clones lors des bioessais sur les feuilles. GRIFFIN et MANION (1985) ont comparé les réactions de cinq clones aux extraits toxiques de cinq isolats avec le développement des chancres à la suite d'inoculations artificielles. Ils ont trouvé que les diamètres des nécroses induites par les extraits toxiques étaient corrélés négativement avec la longueur des chancres et positivement avec la fréquence des cals. Ces auteurs ont donc conclu que ce bioessai mesurait plutôt l'habilité des clones à réagir à un éliciteur. BÉLANGER et *al.* (1989b) ont utilisé le même type de test sur des feuilles détachées et sur des plantules cultivées *in vitro* chez 10 clones de peuplier faux-tremble. Ils ont obtenu de fortes corrélations entre les résultats des deux tests en utilisant des isolats différents pour chacun des tests. Cependant, les résultats des bioessais n'ont pu être corrélés avec l'incidence de la maladie dans la nature. D'autres paramètres comme le taux de croissance des arbres et un indice de qualité de station ont dû être inclus dans un modèle de régression en plus des réactions aux toxines afin de tenter d'expliquer cette variation de l'incidence sur le terrain.

Quelques essais tentant d'isoler et de purifier le composé toxique appelé mammatoxine ont montré que plusieurs composés dérivés de fractionnements des extraits toxiques provoquaient des réactions lors de bioessais (SCHIPPER 1978; STERMER *et al.* 1984). STERMER *et al.* (1984) ont observé que ces composés étaient solubles dans des solvants polaires et stables à la chaleur. Tous les auteurs ont démontré que le poids moléculaire des ces composés était inférieur à 1 500 daltons (STERMER *et al.* 1984; SCHIPPER 1978; BODO *et al.* 1987). Dans un extrait de milieu de culture,

BODO *et al.* (1987) ont identifié un groupe de sulfates de biterpène appelés hymatoxines A, d'un poids moléculaire de 400 daltons, et considéraient ce composé comme la phytotoxine majeure produite par *H. mammatum*. GENETET *et al.* (1989) ont observé, lors de bioessais sur des feuilles, que les réactions de huit clones à l'hymatoxine étaient comparables aux réactions des clones aux filtrats de culture bruts. Ces auteurs ont aussi identifié un autre groupe de composés toxiques, les trihydroxytétralones, avec lesquels ils ont obtenu des réactions différentes lors de bioessais.

Le stress hydrique

Parmi les facteurs environnementaux pouvant influencer l'incidence de la maladie, le stress hydrique est une variable qui a été souvent associée au développement du chancre hypoxylonien. On a d'abord remarqué qu'en peuplement naturel, l'augmentation du nombre d'arbres chancrés était corrélée négativement avec le taux de précipitation (DAY et STRONG 1959). BIER et ROWAT (1962) ont observé que la teneur en eau de l'écorce pouvait être un facteur jouant un rôle important dans le processus d'infection sur des boutures de *Populus trichocarpa* Torr. et Gray. À la suite d'inoculations en serre avec du mycélium, BAGGA et SMALLEY (1969) ont noté un développement plus rapide des chancres et un taux d'infection plus élevé sur des plants subissant un stress hydrique mais ils n'ont pas quantifié ce stress. Plus tard, BRUCK et MANION (1980a) ont démontré que dans la nature, l'incidence plus élevée des chancres était reliée à la faible disponibilité en eau des stations. En induisant un stress hydrique par l'ajout de mannitol dans le milieu de culture, BÉLANGER *et al.* (1989a) ont pu infecter des plantules avec des ascospores, alors qu'ils n'avaient pu le faire pour des plantules non stressées. Ils ont émis l'hypothèse qu'une augmentation du niveau de proline dans les tissus stressés augmentait la virulence de l'agent pathogène (BÉLANGER *et al.* 1990). GRIFFIN *et al.* (1986) avaient démontré que *H. mammatum* utilisait préférentiellement la proline comme source d'azote.

Défense de l'hôte

L'hypothèse selon laquelle des mécanismes de défense importants sont situés au niveau de l'écorce, découle de l'impossibilité d'infecter les plants sans enlever le périderme (BIER 1940; GRUENHAGEN 1945) et des observations de BIER (1940) et de ANDERSON (1952) selon lesquelles les infections naturelles diminuent en fonction de l'âge et de l'épaisseur de l'écorce. Certaines études ont démontré que des composés présents dans les tiges de *P. tremuloides* pouvaient inhiber la germination des ascospores et la croissance de *H. mammatum*. FRENCH et OSHIMA (1959) ont noté que le cortex et une partie du phloème secondaire inhibaient la germination des ascospores tandis que le liège la stimulait. HUBBES (1962) a identifié un pyrocatéchol dans l'écorce de *P. tremuloides* et a démontré son effet inhibiteur sur la germination des ascospores. HUBBES (1969) a aussi isolé l'acide salicylique et l'acide benzoïque à partir de glycosides présents dans l'écorce de *P. tremuloides*. Ces composés ont inhibé la croissance de *H. mammatum* sur un milieu de malt gélosé. Certains auteurs ont observé des variations de l'activité inhibitrice en fonction des clones ou des saisons (FRENCH et MANION 1976), de même que des variations en fonction du site et de la localisation des prélèvements sur l'arbre (HUBBES 1962). FLORES et HUBBES (1980) ont détecté des glycosides dans la tige de *P. tremuloides* en réaction à l'infection par *H. mammatum*. Ces composés ont inhibé la germination des ascospores et agiraient, selon les auteurs, comme des phytoalexines.

* * *

Plusieurs aspects concernant le chancre hypoxylonien demeurent peu connus. Des infections n'ont pu être obtenues de façon reproductible sur les plants de peuplier par des inoculations avec les conidies ou les ascospores en serre ou sur le terrain. Cependant, les travaux récents sur le rôle des métabolites toxiques produits par le champignon et sur le rôle du stress hydrique dans l'incidence de la maladie semblent mettre en évidence l'importance de ces deux facteurs dans le processus d'infection.

Des variations dans la résistance à *H. mammatum* ont été observées parmi les espèces de peuplier de la section Leuce et parmi les clones de peuplier faux-tremble. Il serait possible d'augmenter la résistance à cette maladie par l'amélioration génétique. Cependant, les différentes études ne nous permettent pas de conclure avec certitude si la sensibilité des clones dans les divers tests précoces mis au point pour la sélection de clones résistants à *H. mammatum* traduisent réellement la sensibilité naturelle de ces mêmes clones sur le terrain.

Matériel et méthodes

Inoculations artificielles avec du mycélium

Matériel végétal

En nous basant sur la réaction de plusieurs clones de peuplier, trois mois après les inoculations artificielles avec *H. mammatum* effectuées en juillet à la pépinière de Lotbinière, nous avons retenu six clones représentant une gamme de réactions. Ces clones étaient issus de croisements contrôlés entre des parents sélectionnés au Québec. Le clone A représente l'espèce *P. alba*, le clone B, un croisement de *P. tremuloides* avec *P. alba* et les clones C, D, E et F, des *P. tremuloides*. En octobre, les boutures racinées ont été transférées en serre dans des pots de 10 cm de diamètre. Elles ont été ensuite fertilisées avec une solution N-P-K 20-20-20 à une concentration de 5 g/l tous les 7 jours pendant 5 semaines, sauf une fois où une solution nutritive (Annexe A) a été utilisée à la place du 20-20-20. Les plants ont été ensuite rempotés dans des pots de 15 cm (4 litres) puis fertilisés de la même façon pendant 5 semaines. Le traitement de stress hydrique a débuté 7 jours avant l'inoculation par un arrosage avec un volume d'eau variant de 250 ml à 400 ml tous les 2 jours. Les plants ont été fertilisés avec une solution nutritive (Annexe A) au début de l'expérience puis avec une solution N-P-K 20-20-20 4 semaines plus tard. Après 4 semaines, on a soumis la moitié des plants, choisis de façon aléatoire dans chaque combinaison de traitement, à un arrosage abondant de 750 ml par jour tandis que le traitement de stress hydrique a été maintenu pour l'autre moitié des plants. De la huitième à la onzième semaine, tous les plants ont été arrosés abondamment tous les jours. Les plants étaient soumis à une photopériode de 18 heures et à une température moyenne diurne de 26° C.

Préparation de l'inoculum

Les trois isolats utilisés ont été nommés d'après le canton ou la seigneurie d'origine: Lotbinière, Trécesson et Dequen. Le champignon avait été isolé à partir de périthèces récoltés sur les arbres chancrés de peuplier faux-tremble en modifiant la technique employée par BAGGA et SMALLEY (1974). Des morceaux de stroma avec des périthèces ont été stérilisés en surface, puis ont été mis à tremper dans l'eau stérile à 4° C pendant une heure. Ces morceaux ont ensuite été fixés à l'intérieur du couvercle de boîtes de Pétri stériles. Après 24 à 48 heures à 10° C, les ascospores déchargées dans les boîtes de Pétri ont été recueillies et entreposées dans des conditions stériles à 4° C pendant quelques jours. Les spores ont été prélevées au microscope binoculaire pour la préparation de cultures monospermes. Le champignon a été cultivé sur un milieu gélosé de malt pour une période de 7 jours. L'inoculum consistait en des pastilles de mycélium prélevées au pourtour des cultures avec un emporte-pièce de 2 mm de diamètre. En pépinière, seul l'isolat Lotbinière a été utilisé.

Technique d'inoculation

On a utilisé la même technique pour les inoculations en serre et en pépinière. En serre, les plants ont été désinfectés avec de l'éthanol à 95 %, puis des morceaux d'écorce ont été prélevés avec un emporte-pièce de 2 mm de diamètre à des hauteurs situées à 14, 21 et 28 cm du collet. Des pastilles de mycélium ont été appliquées sur les blessures aux extrémités et une pastille témoin a été appliquée à une hauteur de 21 cm sur toutes les tiges. On protégeait l'inoculum avec un morceau de mousse de polyuréthane et une bande de *Parafilm*^{mc}. En pépinière, deux blessures seulement ont été pratiquées sur le tronc de chaque plant: une pour l'inoculum et une pour la pastille témoin.

Mesures et analyses

En serre, le dispositif consistait en un factoriel en blocs complets. Les plants étaient distribués en deux blocs complets représentés par deux tables dans une serre. Dans chaque bloc, chaque combinaison de traitement était représentée par deux plants. Au moment de l'inoculation et à intervalle de 2 semaines, le potentiel hydrique maximum de la moitié des plants dans chaque combinaison de traitement a été mesuré en début d'après-midi à l'aide d'une bombe à pression juste avant l'arrosage. La longueur des nécroses a été mesurée après 2, 4, 6, 8 et 11 semaines. Parmi la moitié des plants pour chaque combinaison de traitement, ceux qui présentaient des symptômes ont été échantillonnés après 11 semaines pour l'isolement de *H. mammatum*. En pépinière, les longueurs des nécroses au point d'inoculation ont été mesurées après 3 et 15 mois.

Après avoir vérifié l'homogénéité de la variance entre les traitements, on a effectué une analyse multivariée de mesures répétées (SAS INSTITUTE 1986; MOSER *et al.* 1990). Les deux facteurs de mesures répétées étaient les semaines pendant lesquelles ont été prises les mesures et la hauteur d'inoculation. Des comparaisons simples à priori ont été effectuées afin de déceler les différences entre les traitements à la onzième semaine.

Bioessais avec les filtrats toxiques

Matériel végétal

Les plants des six clones de peuplier, utilisés dans l'expérience précédente, ont été recépés à une hauteur d'environ 12 cm. Par la suite, un rejet a été gardé sur chaque plant et les autres ont été enlevés. Les plants ont été cultivés 3 mois en serre, arrosés régulièrement et fertilisés toutes les 2 semaines avec une solution N-P-K 20-20-20 à une concentration de 5 g/l. Ils ont été soumis à une photopériode de 17 heures et à une température moyenne diurne de 24°C.

Préparation des filtrats

Les trois mêmes isolats de *H. mammatum* ont été utilisés: Lotbinière, Trécesson et Dequen. Les filtrats toxiques ont été préparés en utilisant une méthode modifiée de GRIFFIN et MANION (1985). Le champignon était cultivé sur un milieu de malt et agar pendant 7 jours puis 50 pastilles prélevées au pourtour des colonies ont été broyées dans 25 ml d'eau stérile. Le broyat a été transféré dans 10 fioles de 250 ml contenant 50 ml d'un milieu synthétique utilisé par GRIFFIN et MANION (1985) et était incubé, à la température et aux conditions de lumière de la pièce, sur un agitateur à 100 t/min pendant 10 jours. Après 10 jours, le mycélium était séparé par filtration et concentré dans un évaporateur rotatif à 1/5 du volume initial. Un volume égal de méthanol était ajouté et le filtrat, entreposé à -16°C pendant 12 heures. Après filtration, la solution était évaporée complètement et le résidu, récupéré dans le méthanol à 70 % ou dans l'eau distillée stérile afin d'obtenir 1 % du volume initial. Les extraits témoins ont été préparés de la même façon sauf que le milieu de culture n'avait pas été inoculé avec le champignon. Le pH a été ajusté à 7 pour tous les extraits.

Bioessais sur les feuilles

On a utilisé une technique semblable à celle utilisée par BRUCK et MANION (1980b). Pour chacun des six clones, on a prélevé des jeunes feuilles d'âge physiologique comparable sur les plants, et on a immédiatement placé les pétioles dans des éprouvettes d'eau distillée stérile. Chaque feuille a été ensuite piquée avec une pointe d'aiguille à quatre endroits. Dans le premier test, 2 μl de filtrat dissous dans le méthanol et provenant de trois isolats différents ont été appliqués à chacune des trois premières piqûres. Dans le deuxième test, les filtrats dissous dans l'eau provenant de l'isolat Trécesson ont été employés pour les trois mêmes piqûres. Dans les deux tests, la quatrième piqûre correspondait aux extraits témoins. Les feuilles ont été placées dans des bassins contenant un peu d'eau, recouverts de façon étanche avec un sac de plastique et entreposés dans une chambre noire à 24°C dans le noir.

Mesures et analyses

Pour le premier test, chaque clone était représenté par 12 feuilles prélevées sur six plants. Les trois isolats étaient appliqués sur chaque feuille, ce qui correspondait à 12 répétitions par combinaison de traitement. Pour le deuxième test, on a utilisé six feuilles pour un total de 18 répétitions par traitement. Le diamètre des nécroses a été mesuré après 72 heures. L'effet des traitements sur le diamètre des nécroses a été vérifié à l'aide d'une analyse de variance. Des comparaisons simples à priori ont été effectuées pour comparer les réactions entre les clones. Les deux expériences ont été répétées deux fois.

Inoculations artificielles avec des ascospores et des filtrats toxiques

Matériel végétal

On a employé les mêmes plants que dans l'expérience des bioessais sur les feuilles. Après trois mois en serre dans les conditions de culture décrites précédemment, un régime d'arrosage régulier, soit généralement 250 mL tous les deux jours, a débuté sept jours avant l'inoculation afin d'induire un stress hydrique et de provoquer le flétrissement des plants quelques heures avant l'arrosage.

Préparation de l'inoculum

Les ascospores ont été récoltées à partir d'un même chancre dans la région de Lotbinière selon la technique déjà décrite. Les extraits du filtrat de l'isolat Trécesson ont été préparés de la même façon que dans les bioessais sur les feuilles et ont été dissous dans l'eau distillée stérile.

Techniques d'inoculation

Trois traitements ont été appliqués sur les six clones de peuplier: extraits de filtrats de milieu de culture témoin avec ascospores, extraits toxiques de filtrats de milieu de culture seuls et extraits toxiques de filtrats de milieu de culture avec ascospores. Les spores ont été mises en solution dans les extraits à une concentration de 10^6 ascospores/ml quelques minutes avant l'inoculation. Les extraits dans les tubes étaient agités sur un agitateur *Vortex* avant chaque prélèvement. À une hauteur de 18 cm à partir de la base de la tige, les tiges ont été désinfectées avec de l'éthanol à 95 % et un morceau d'écorce a été prélevé avec un emporte-pièce de 2 mm de diamètre. On a appliqué 2 μl d'extraits dans la blessure et on l'a recouverte avec une bande de *Parafilm*^{mc}, qui était enlevée après 7 jours.

Mesures et analyses

Le dispositif était un factoriel complètement aléatoire et chaque combinaison de traitement était représentée par six plants. Les symptômes à l'endroit de l'inoculation ont été observés après 4 semaines. Chaque tige a été coupée transversalement en deux au point d'inoculation et des sections de 1,0 cm ont été gardées. La moitié des sections a été utilisée pour l'isolement de *H. mammatum*, et l'autre moitié a été fixée dans une solution de formaline à 40 % – acide acétique glacial – éthanol à 95 % (FAA) (15:5:75). Pour effectuer des coupes minces, on a enrobé le matériel dans le polyéthylène glycol 4 000 (WALKER 1959; RIOPEL 1962). Des sections de 10 μm d'épaisseur ont été pratiquées avec un microtome rotatif et ont été ensuite colorées à la safranine 0 (pour les tissus lignifiés) et à la picro-aniline bleue (pour les hyphes) (PEACOCK 1966). Les sections provenant d'au moins deux tiges par clone ont été observées au microscope optique. Les symptômes présents sur ces tiges étaient représentatifs des différents symptômes rencontrés.

Résultats

Inoculations artificielles avec du mycélium

Les résultats des inoculations en pépinière après 3 et 15 mois sont présentés au tableau 1. Chez le clone A, un plant de *P. alba*, la blessure était refermée après 3 mois. Pour le clone B, la blessure ne s'est pas complètement refermée même après 15 mois, mais aucune nécrose n'a été observée. Après 3 mois, les clones C et F présentaient des nécroses plus longues que les autres (45,3 mm et 47,0 mm respectivement). Après 15 mois, la longueur du chancre du clone D (153 mm) était très supérieure à celle des clones E et F. Le plant du clone C est mort durant l'hiver précédent.

Pour l'expérience en serre, les plants subissant un stress hydrique montraient généralement des symptômes de flétrissement quelques heures avant l'arrosage. Jusqu'à la quatrième semaine, le potentiel hydrique moyen des deux groupes de plants était toujours inférieur à –15 bars (figure 1). À partir de la quatrième semaine, on a continué le même type d'arrosage jusqu'à la huitième semaine pour un groupe de plants tandis que l'autre groupe a reçu un arrosage quotidien abondant jusqu'à la fin de l'expérience. Pour le groupe de plants stressés, le potentiel hydrique moyen était de – 11,4 bars et de – 12,1 bars à la sixième et huitième semaine, respectivement. Pour le groupe non stressé, on a observé des potentiels hydriques moyens plus bas, soit – 9,0 et – 8,9 bars pour la sixième et la huitième semaine respectivement. Aucune différence significative n'a été observée pour la longueur moyenne des nécroses entre les deux groupes de plants (tableau 2).

En serre, des nécroses ont été observées sur plusieurs tiges lorsque les bandes de *Parafilm*^{mc} furent enlevées 2 semaines après l'inoculation. *Hypoxylon mammatum* a été réisolé chez 95 % des plants échantillonnés à la onzième semaine. Pour les inoculations témoins, les blessures se sont refermées de 2 à 4 semaines plus tard et aucune nécrose n'est apparue.

Après 4 semaines, en regroupant les traitements des isolats et d'arrosage, la proportion de plants avec des nécroses variait entre 44 et 71 % selon le clone et la hauteur d'inoculation (figure 2). A cette date, les pourcentages d'arbres avec des nécroses pour les clones A et B étaient comparables à ceux observés pour les quatre clones de peuplier faux-tremble. Entre la quatrième et la onzième semaine, le nombre de plants avec des nécroses au bas et au haut de la tige a fortement diminué pour les clones A et B tandis qu'il est resté stable ou a augmenté pour les 4 clones de peuplier faux-tremble. Après 11 semaines, les proportions étaient, pour le bas et le haut de la tige respectivement, de 17 et 21 % pour le clone A et de 29 et 21 % pour le clone B. Pour les clones C et E, le pourcentage d'arbres nécrosés a peu varié entre la quatrième et la onzième semaine. Après 11 semaines, la proportion d'arbres avec des nécroses pour les clones C et E était de 71 et de 57 % respectivement, au bas de la tige, et de 57 % pour les deux clones, au haut de la tige. Pour le clone D, le nombre d'arbres chancrés est demeuré stable (57 % à la onzième semaine) pour le haut de la tige mais a diminué de moitié pour les inoculations du bas de la tige (30 % à la onzième semaine). Chez le clone F, on a observé une augmentation importante du pourcentage d'arbres nécrosés. La proportion est passée de 44 % et 52 % pour le bas et le haut de la tige respectivement, à 83 % pour les deux hauteurs à la onzième semaine.

En ce qui concerne la longueur moyenne des nécroses, plusieurs interactions significatives ont été obtenues (tableau 2). Pour les clones A et B, la longueur moyenne est demeurée stable ou a diminué de la deuxième à la onzième semaine, pour les deux hauteurs (figure 3). Généralement, la longueur des nécroses augmente graduellement pour les clones de peuplier faux-tremble C, D, E et F.

Tableau 1. Longueur des nécroses sur les six clones de peuplier inoculés à la pépinière de Lotbinière avec l'isolat Lotbinière de *Hypoxylon mammatum*

Semis	Longueur des nécroses (mm)	
	Après 3 mois	Après 15 mois
A	0	0
B	0	0
C	45,3	–[a]
D	26,8	153,0
E	25,9	82,1
F	47,0	95,4

[a] La mort du clone C l'hiver précédent a été causée par des facteurs autres que *H. mammatum*.

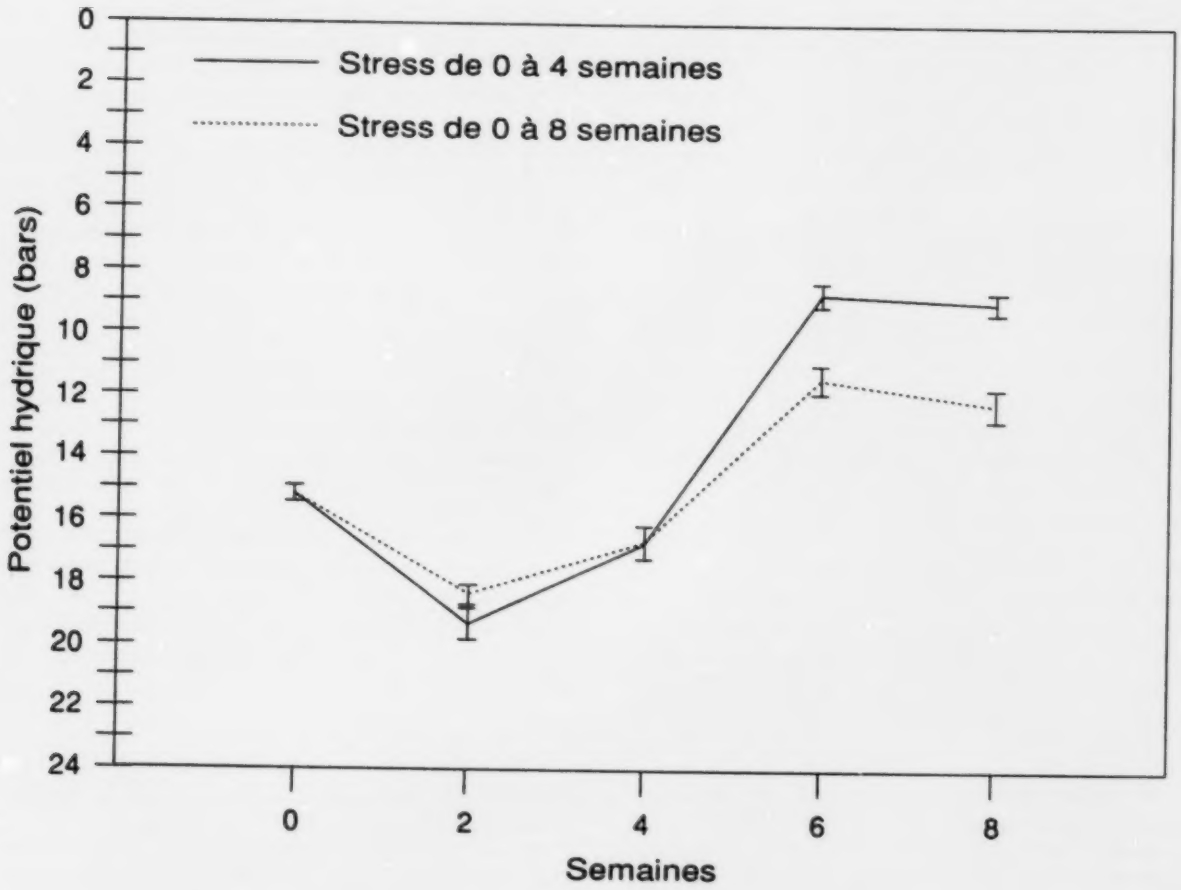

Figure 1. Potentiel hydrique moyen (± erreur-type) des plants de six clones de peuplier inoculés en serre avec *Hypoxylon mammatum*.

Tableau 2. Analyse de variance de mesures répétées pour la variable longueur des nécroses prises sur les plants de six clones de peuplier ayant subi deux types d'arrosage et inoculés avec *Hypoxylon mammatum* en serre

Source	dl	λ de Wilk	Moyenne des carrés	*F*	*P* > *F*
Bloc	1		33,55	0,02	0,8753
Clone	5		3962,07	2,92	0,0167
Isolat	2		4763,26	3,51	0,0335
Arrosage	1		3190,17	2,35	0,1282
Clone x Isolat	10		2844,59	2,10	0,0314
Clone x Arrosage	5		809,14	0,60	0,7023
Clone x Isolat x Arrosage	12		1742,58	1,29	0,2390
Erreur	99		1355,37		
Hauteur	1	0,999 30 (99)		0,07	0,7924
Hauteur x Clone	5	0,957 04 (99)		0,89	0,4917
Hauteur x Isolat	2	0,987 5 (99)		0,62	0,5377
Hauteur x Arrosage	1	0,979 5 (99)		2,07	0,1535
Hauteur x Clone x Isolat	10	0,804 36 (99)		2,41	0,0132
Hauteur x Clone x Arrosage	5	0,951 40 (99)		1,01	0,4151
Semaine	4	0,555 36 (96)		19,22	0,0001
Semaine x Clone	20	0,453 79 (319)		4,30	0,0001
Semaine x Isolat	8	0,934 50 (192)		0,83	0,5799
Semaine x Arrosage	4	0,997 74 (96)		0,55	0,7021
Semaine x Clone x Isolat	40	0,561 22 (366)		1,51	0,0292
Semaine x Clone x Arrosage	20	0,776 32 (319)		1,27	0,1993
Hauteur x Semaine	4	0,873 07 (96)		3,49	0,0105
Hauteur x Semaine x Clone	20	0,728 49 (319)		1,60	0,0507
Hauteur x Semaine x Isolat	8	0,958 4 (192)		0,52	0,8441
Hauteur x Semaine x Arrosage	4	0,933 63 (96)		1,71	0,1549

Note : le λ de Wilk est une analyse multivariée. Le degré de liberté au dénominateur du terme d'erreur est donné entre parenthèses. Les mesures sont prises à deux hauteurs sur la même tige et à cinq dates (semaine) différentes.

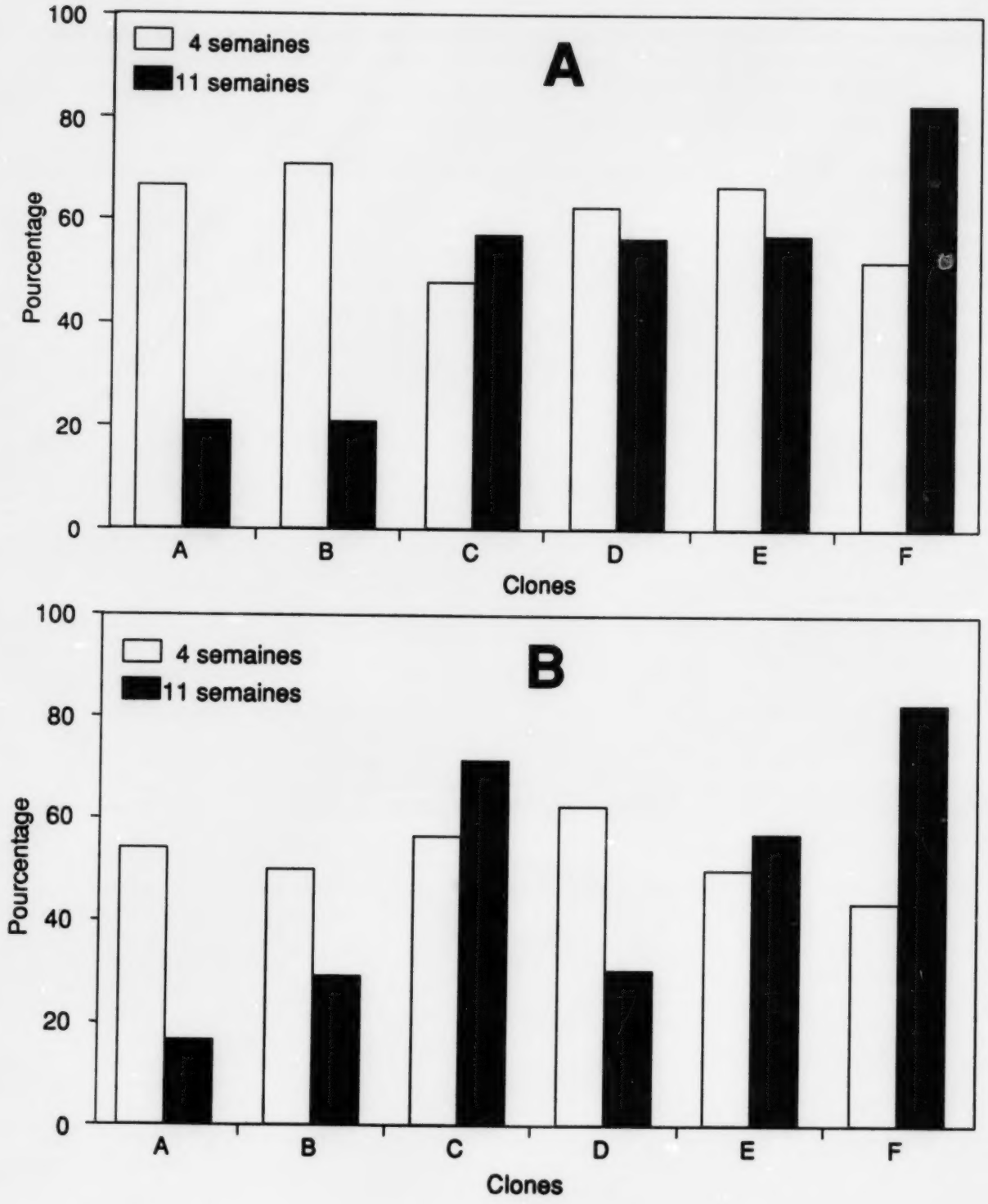

Figure 2. Pourcentage de semis avec des nécroses localisées aux points d'inoculation du haut (A) et du bas (B) de la tige chez six clones de peuplier, 4 semaines et 11 semaines après l'inoculation avec *Hypoxylon mammatum*.

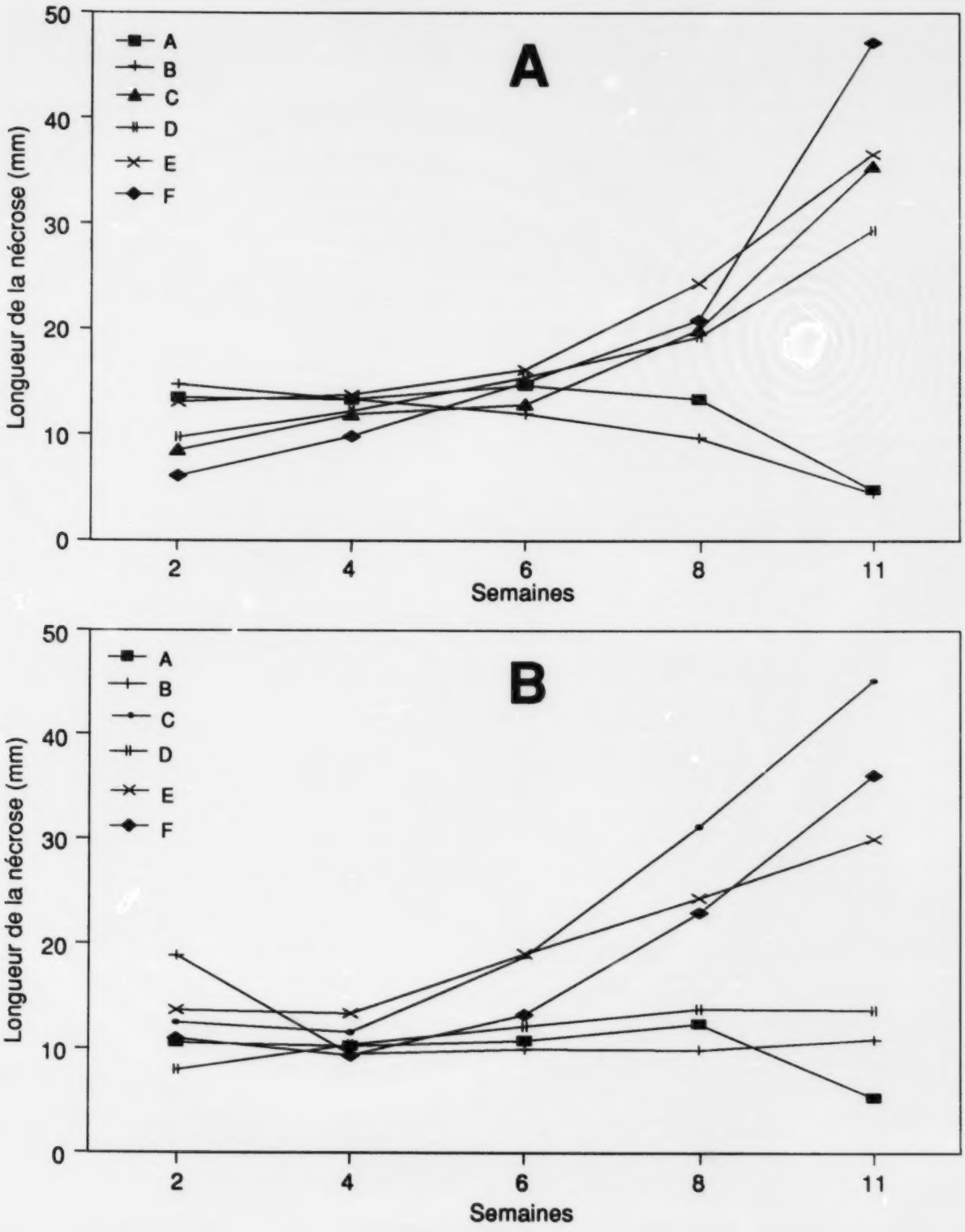

Figure 3. Progression de la longueur moyenne des nécroses entre 2 et 11 semaines à la suite de l'inoculation au haut (A) et au bas (B) de la tige de six clones de peuplier avec *Hypoxylon mammatum*.

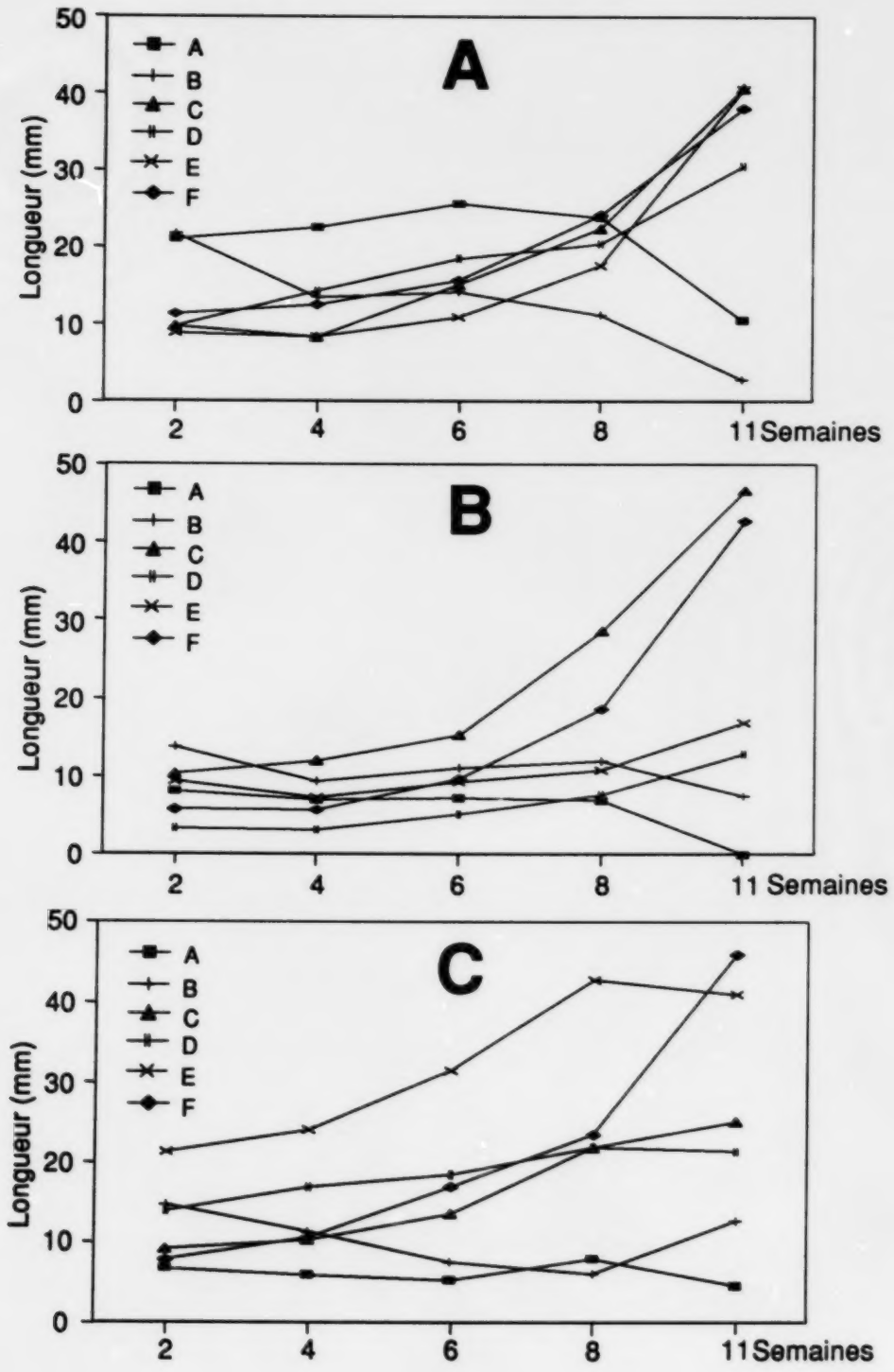

Figure 4. Progression de la longueur moyenne des nécroses entre 2 et 11 semaines à la suite de l'inoculation de six clones de peuplier avec les isolats Trécesson (A), Dequen (B) et Lotbinière (C) de *Hypoxylon mammatum*.

Des différences significatives ont été observées entre les clones à la onzième semaine. Pour les inoculations du haut de la tige, la longueur moyenne des nécroses du clone A était significativement inférieure à celle des quatre clones de peuplier faux-tremble : les clones C (p = 0,0051), D (p = 0,0103), E (p = 0,0016) et F (p = 0,0001). On a noté peu de différences entre les clones C, E et F et aucune différence entre les clones A et B. Pour les inoculations du bas de la tige, la longueur moyenne des nécroses du clone A était significativement inférieure à celle des nécroses des clones C (p = 0,0001), E (p = 0,0045) et F (p = 0,0002). On a observé peu de différences entre les clones C, E et F et aucune différence entre les clones A et B.

Même si l'interaction semaine X clone X isolat était significative, on a observé que, quel que soit l'isolat utilisé, la longueur moyenne des nécroses augmentait généralement avec le temps pour les quatre clones de peuplier faux-tremble et diminuait généralement pour les clones A et B (figure 4). Cependant, la longueur moyenne augmentait à des vitesses différentes selon l'isolat pour les clones C, D et E. Pour le clone F,la longueur moyenne des nécroses augmentait rapidement dans le temps, quel que soit l'isolat utilisé (figure 5). Par ailleurs, on a remarqué qu'avec l'isolat Trécesson, les longueurs moyennes des nécroses étaient supérieures à 30 mm pour l'ensemble des quatre clones de peuplier faux-tremble. Avec les isolats Dequen et Lotbinière, elles étaient supérieures à 30 mm pour seulement deux clones sur quatre.

Bioessais avec les filtrats toxiques

Dans les deux expériences, l'application de filtrats toxiques a induit des nécroses localisées sur les feuilles (figure 5) La réaction des clones aux inoculations témoins était nulle ou négligeable. En ce qui concerne le bioessai avec les extraits de trois isolats dissous dans le méthanol, l'interaction clone X isolat était significative (p = 0,0001) (Annexe B). Pour chacun des trois isolats, le clone D était le seul clone dont le diamètre moyen des nécroses était significativement supérieur à celui des nécroses du clone A (p = 0,0001) (figure 6a).

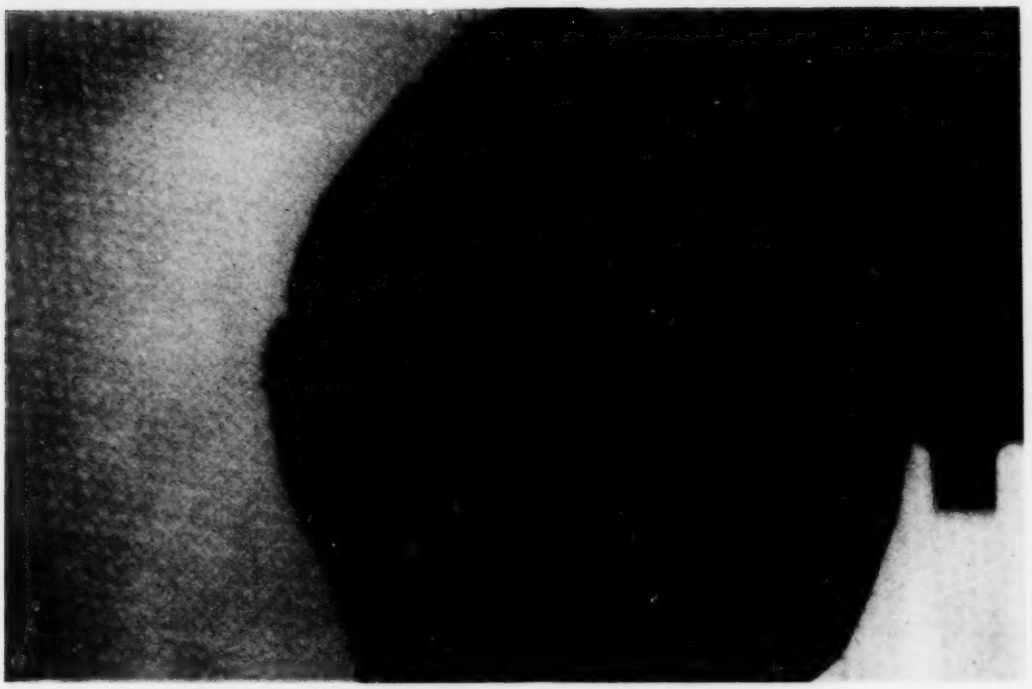

Figure 5. Nécroses localisées indultes par l'application de filtrats de milieux de culture de trois isolats de *Hypoxylon mammatum* sur les feuilles du clone D (*Populus tremuloides*).
La flèche indique l'inoculation témoin.

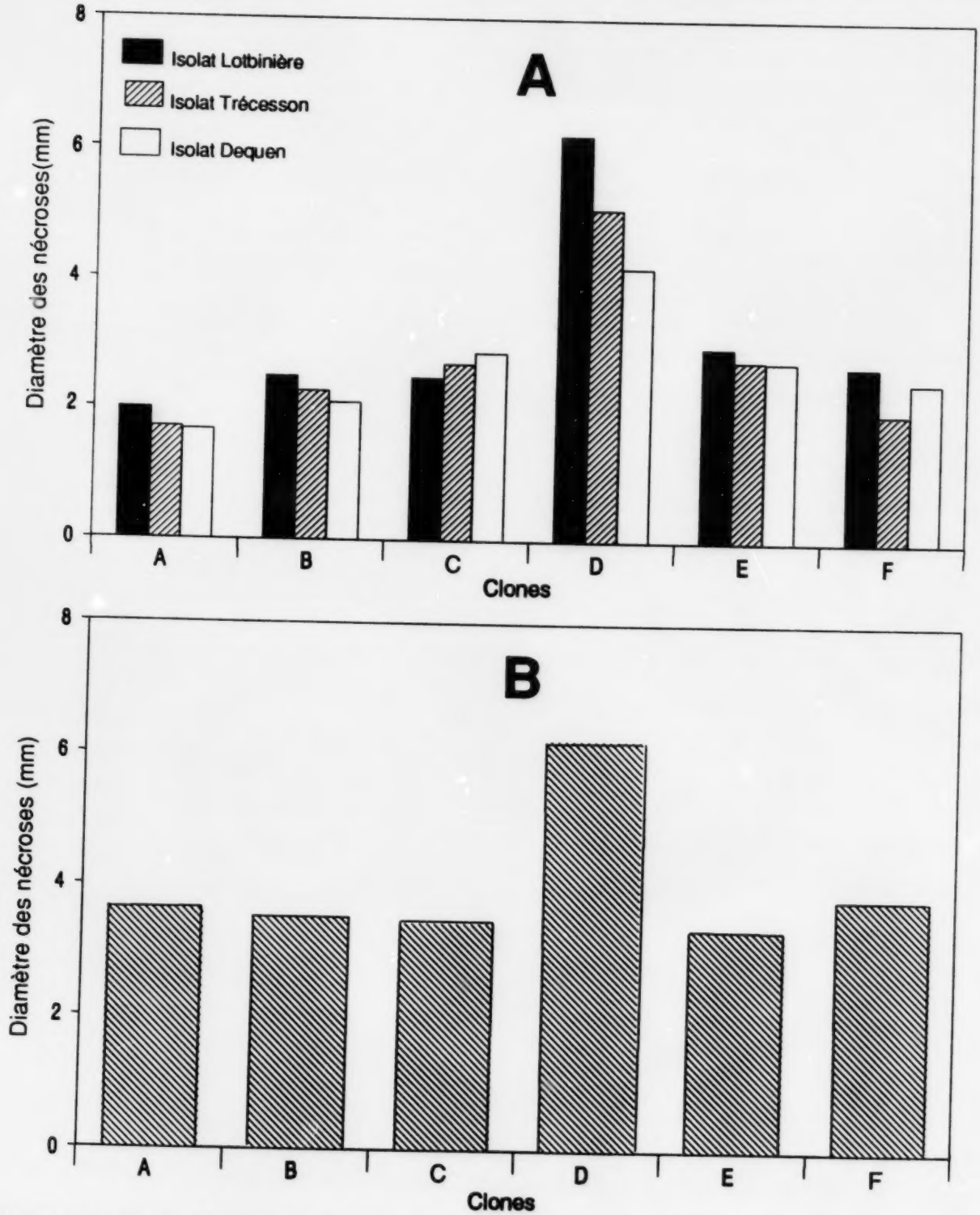

Figure 6. Diamètre des nécroses à la suite de l'application d'extraits dissous dans le méthanol, de milieu de culture de trois isolats de *Hypoxylon mammatum* (A) et d'extraits dissous dans l'eau, de l'isolat Trécesson (B) sur six clones de peuplier.

Tableau 3. Nombre de plants en serre avec différents symptômes et réisolement de *Hypoxylon mammatum* 4 semaines après l'inoculation de six clones de peuplier

	Nécroses	Isolés	Cals fermés	Isolés	Absence de cals	Isolés	Total	Isolés
Extraits toxiques	9	0	18	0	7	0	34	0
Extraits toxiques et ascospores	8	5	22	11	4	1	34	17
Extraits témoins et ascospores	0	0	28	3	7	0	35	3

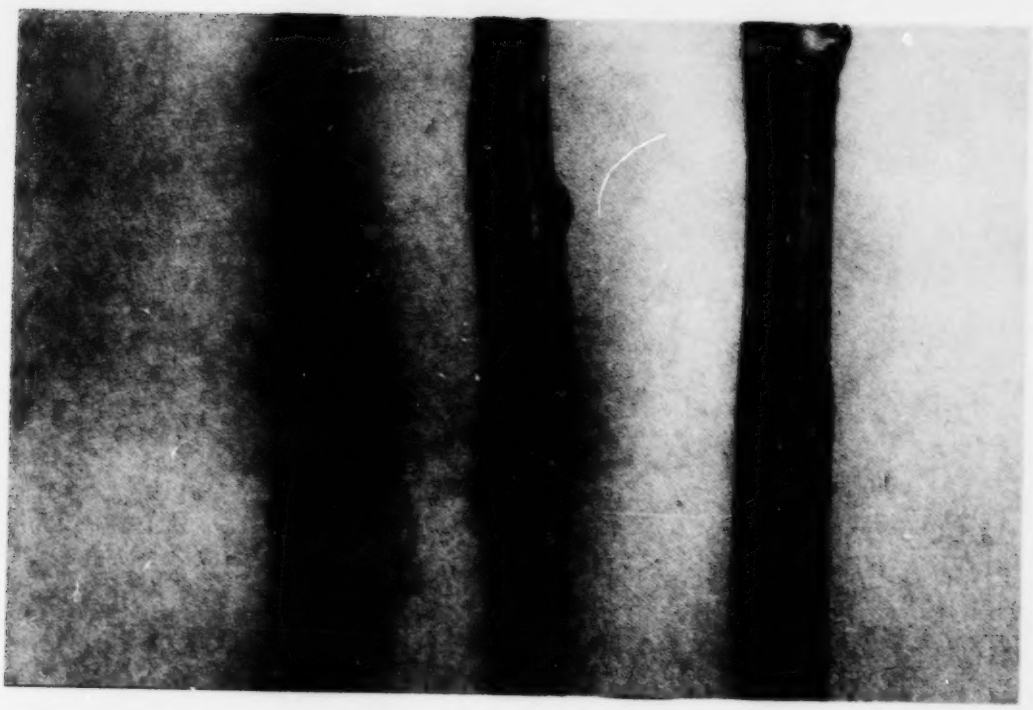

Figure 7. Réactions typiques des tiges du clone D de *Populus tremuloides* à la suite de l'application de trois traitements: extraits toxiques avec les ascospores de *Hypoxylon mammatum* (A), extraits toxiques seuls (B) et extraits témoins avec ascospores (C).

Pour le biossai effectué avec les extraits de l'isolat Trécesson dissous dans l'eau, les résultats étaient similaires (figure 6b). Le seul clone dont la réaction est significativement différente de celle de tous les autres clones était le clone D (p = 0,0001) (Annexe C).

Inoculations avec des ascospores et des filtrats toxiques

Le stress hydrique provoquait généralement le flétrissement de l'ensemble des plants après 2 jours sans arrosage. Quatre semaines après l'inoculation, trois types de symptômes ont été observés: des nécroses localisées, des cals complètement refermés sur la blessure et l'absence de cals ou des cals partiellement refermés (tableau 3, figure 7). Pour les tiges inoculées avec des ascospores en suspension dans les extraits témoins, aucune nécrose n'a été observée et la majorité des tiges a formé des cals complètement refermés. *Hypoxylon mammatum* a été isolé de trois de ces tiges. L'application d'extraits toxiques seuls a provoqué la formation de nécroses sur toutes les tiges du clone D et sur trois tiges du clone E. La longueur moyenne des nécroses pour les clones D et E était respectivement de 10,9 et 11,2 mm. Les autres tiges présentaient les deux autres types de symptômes décrits précédemment. *Hypoxylon mammatum* n'a été isolé d'aucune des tiges soumises au traitement d'extraits toxiques seuls. A la suite de l'inoculation avec des ascospores dans les extraits toxiques, des nécroses sont aussi apparues sur l'ensemble des tiges du clone D et sur deux tiges du clone E. Les nécroses mesuraient en moyenne 11,5 et 11,2 mm de longueur pour les clones D et E, respectivement. De ces huit tiges, *H. mammatum* a été isolé de trois tiges du clone D et de deux tiges du clone E. La plupart des autres tiges ayant subi ce traitement ont formé des cals complètement refermés sur la blessure. Des 22 tiges présentant des cals, on a isolé *H. mammatum* de 11 de ces plants répartis entre les six clones.

L'observation des tiges à l'aide du microscope a permis de déceler des réactions à l'infection différentes de celles des autres clones chez les clones A et B (figures 8 et 9). Chez les clones A (*P. alba*) et B (*P. tremuloides* x *P. alba*), la production de cals était abondante et la présence de zones de réaction a été détectée près des points d'inoculation en réaction aux trois types de traitement. Ces zones étaient formées principalement de cellules caractérisées par l'accumulation de composés fortement colorés par la safranine. Ces cellules colorées pouvaient être observées à une certaine distance du point d'inoculation. Chez les clones de *P. tremuloides* C, D, E et F, cette zone de réaction était absente dans les tiges présentant des nécroses ou des cals refermés sur la blessure.

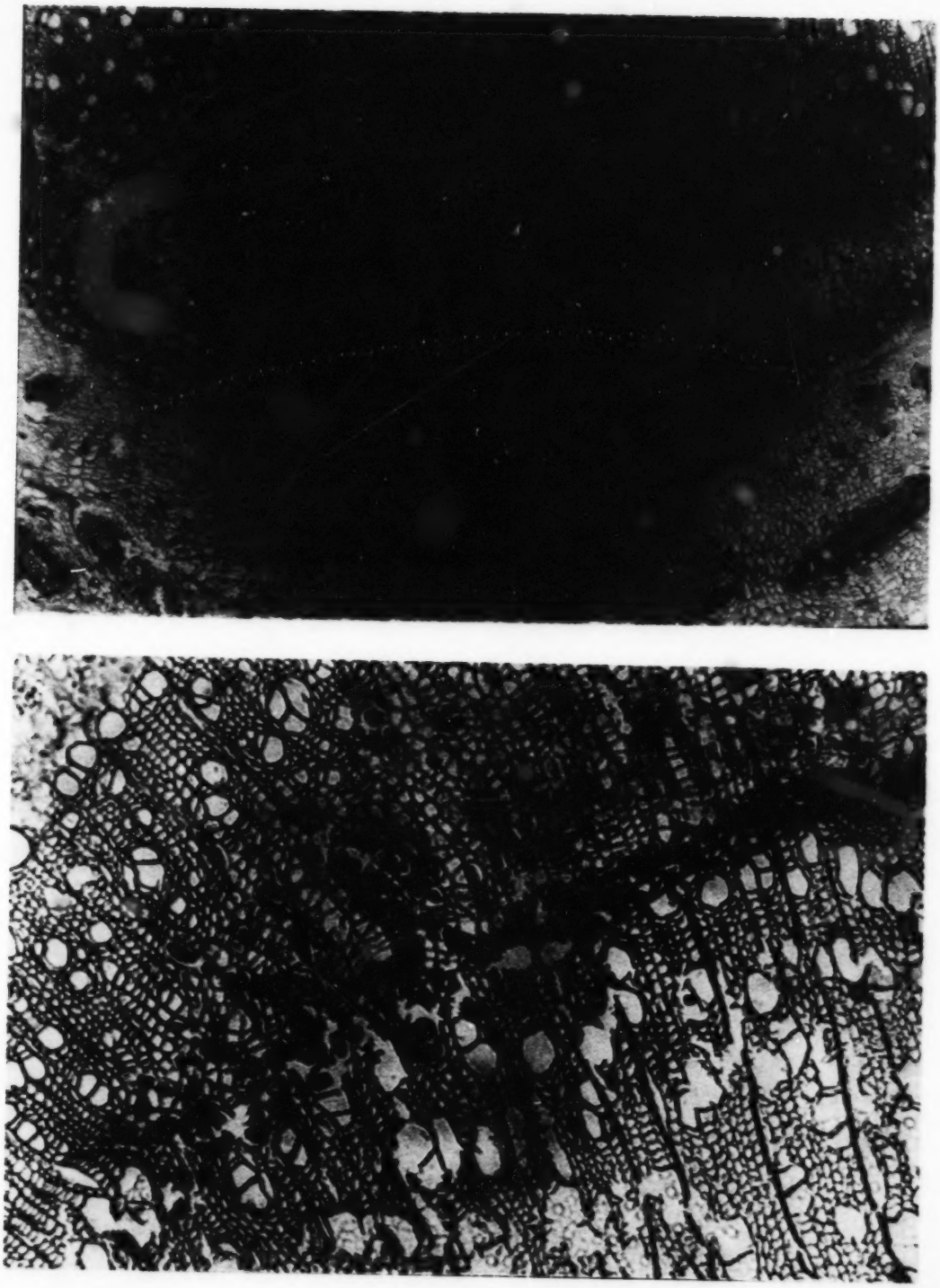

Figure 8. Cals et zones de réaction formés chez le clone A de *Populus alba* quatre semaines après l'application d'ascospores de *Hypoxylon mammatum* dans les extraits toxiques (grossissement 100X) (A) et chez le clone B (*Populus tremuloides* x *P. alba*) après l'application d'extraits toxiques seuls (400X) (B). Coupes transversales.

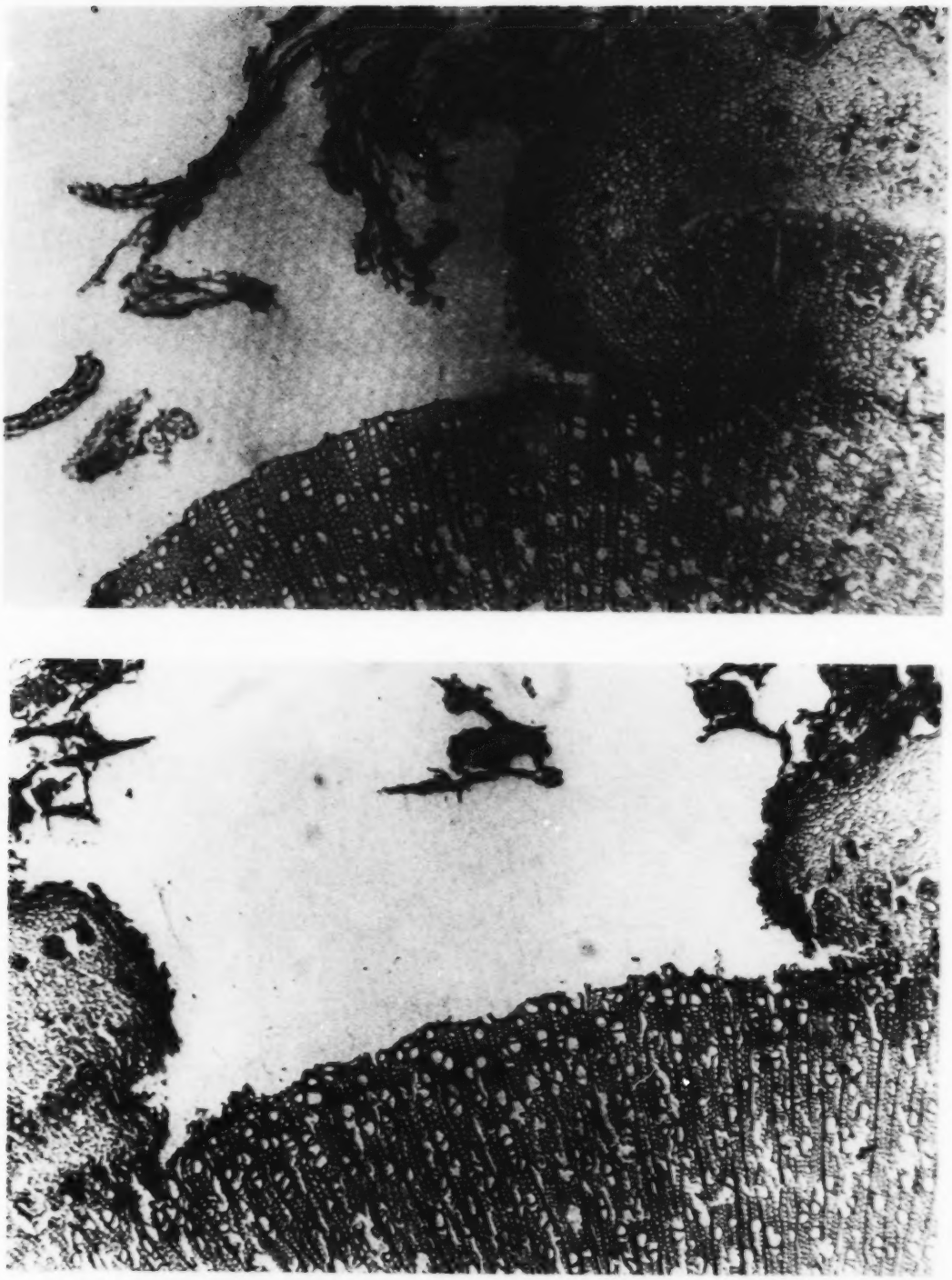

Figure 9. Cals peu abondants et absence de zones de réaction chez le clone D de *Populus tremuloides* 4 semaines après l'application d'extraits toxiques seuls (A) et chez le clone E après l'application d'ascospores de *H. mammatum* dans les extraits toxiques (B) (grossissement 100X). Coupes transversales

Discussion

Dans les tests d'inoculation artificielle avec du mycélium en serre, aucune différence significative n'a été décelée entre le groupe de plants stressés pendant 4 semaines et celui des plants stressés pendant 8 semaines. Selon notre étude, le stress hydrique n'a pas semblé avoir d'effet sur la progression du champignon ou l'habilité de l'hôte à se défendre une fois que *H. mammatum* s'était installé dans les tissus de la plante. Cependant, on peut supposer un effet possible du type d'arrosage dans une expérience ultérieure où la différence entre les deux traitements serait plus draconienne ou le dispositif différent car les probabilités obtenues pour certaines interactions avec l'arrosage étaient inférieures à 0,2. BAGGA et SMALLEY (1969) ont obtenu un taux d'infection et une progression des nécroses plus élevés chez des plants stressés mais ils n'ont pas quantifié ce stress hydrique. BÉLANGER *et al.* (1989a) ont observé que l'invasion de *H. mammatum* était stimulée chez des plantules *in vitro* exposées à un stress hydrique. Dans ces deux études, on n'a pas cependant comparé l'effet de la durée du stress hydrique sur la progression des chancres déjà présents sur les tiges.

La technique d'inoculation avec le mycélium utilisée dans notre étude a provoqué un taux d'infection élevé en serre. Les clones A et B se sont avérés plus résistants que les clones de peuplier faux-tremble, ce qui correspond à la résistance habituelle dans la nature de *P. alba* et d'hybrides entre *P. tremuloides* et *P. alba*. Ces observations correspondent aussi à nos résultats d'inoculation en pépinière et aux résultats des inoculations effectuées par ROGERS et BERBEE (1964) et PINON (1986). Après 4 semaines en serre, on observait peu de différences entre le clone de *P. alba* et les clones de *P. tremuloides*. Par la suite, une production abondante de cals chez le *P. alba* a permis aux blessures de se refermer et les différences entre ce clone et les clones de peuplier faux-tremble ont pu alors être décelées après 11 semaines. Ce phénomène avait déjà été observé par ROGERS et BERBEE (1964) en pépinière. Ces auteurs mentionnent que la formation de cals est un mécanisme de défense qui jouerait un rôle plus important pour des espèces comme *P. alba* que pour les *P. tremuloides*. Cette technique d'inoculation artificielle avec du mycélium pourrait permettre d'effectuer un tri préliminaire des plants appartenant à des espèces montrant une plus grande résistance ou issus d'hybridation avec des espèces plus résistantes comme *P. alba*.

Dans notre étude, les différences de sensibilité à *H. mammatum* étaient difficiles à déceler entre les clones de peuplier faux-tremble. Des interactions avec les isolats, la hauteur de l'inoculation et la date de mesure indiquent la complexité des relations hôte-pathogène qui interviennent dans le processus de développement des chancres. GRIFFIN *et al.* (1984) avaient aussi observé, en mesurant la longueur des chancres, une interaction clone X isolat, 4 et 12 mois après l'inoculation de semis de peuplier faux-tremble sur le terrain. D'après MANION et GRIFFIN (1986), les méthodes d'inoculation consistant à introduire du mycélium dans la blessure transgressent les mécanismes de défense mis en oeuvre lors de l'infection mais reflètent probablement les interactions hôte-pathogène une fois que le chancre est présent sur la tige. Par des essais d'inoculation artificielle et des tests de germination des spores et de croissance du mycélium, plusieurs auteurs ont conclu que des mécanismes de défense importants se situaient au niveau de l'écorce (BIER 1940; GRUENHAGEN 1945; ANDERSON 1952; HUBBES 1962, 1969).

Les différences de résultats obtenues selon la hauteur de l'inoculation sur la tige ont déjà été observées sur des semis en serre par BAGGA et SMALLEY (1974). Ces différences pourraient s'expliquer par un degré de lignification plus élevé dans les parties plus basses de la tige.

L'isolat Trécesson s'est avéré plus virulent que les deux autres en causant des chancres dont la longueur est plus importante chez la plupart des clones testés. GRIFFIN *et al.* (1984) ont noté que la grande variabilité entre les isolats de *H. mammatum* pouvait en effet se traduire par la variation dans l'élongation des chancres.

En pépinière, on observe que le classement des clones selon la longueur des chancres varie en fonction du temps d'échantillonnage. Selon ces résultats, une période de trois mois serait probablement insuffisante pour permettre d'évaluer les réactions des semis en serre ou sur le terrain, ce qui corrobore les conclusions de GRIFFIN *et al.* (1984).

Les bioessais avec les filtrats toxiques sur les feuilles ont permis de déceler certaines différences entre les clones. L'application de ces mêmes filtrats sur les tiges a aussi induit des nécroses. La sensibilité relative des clones aux extraits est comparable tant sur les feuilles que sur les tiges, ce qui correspond aux observations de STERMER *et al.* (1984).

La constance des résultats obtenus dans les diverses expériences ainsi que les réactions faibles des clones résistants, comme le *P. alba*, aux extraits toxiques indiqueraient, comme l'avaient déjà observé plusieurs auteurs, que l'ampleur des nécroses causées par la toxine traduit une sensibilité élevée à *H. mammatum* et que cette réaction est régie par la génétique (BRUCK et MANION 1980b; PINON 1984; STERMER *et al.* 1984). Le clone D est le seul clone qui ait réagi de façon significativement différente aux extraits toxiques si on le compare au clone A, résistant. La longueur du chancre du semis du clone D était de loin supérieure (153 mm) à celle des chancres chez les autres clones de peuplier faux-tremble à la suite des inoculations en pépinière. Le bioessai permettrait donc de détecter les clones les plus sensibles car les trois autres clones de peuplier faux-tremble n'ont pas différé du clone A dans leur réaction aux toxines. BÉLANGER *et al.* (1989b) ont inclus d'autres paramètres, dont les facteurs environnementaux, en plus de la réaction aux toxines dans un modèle de régression. Ce modèle expliquait 91 % de la variabilité de l'incidence de la maladie chez les clones étudiés. Ces auteurs concluent que les bioessais avec des extraits toxiques ne peuvent être utilisés seuls pour sélectionner de façon précise des clones de peupliers faux-tremble résistants à *H. mammatum*. Par contre, PINON (1984), utilisant un grand nombre de clones appartenant à plusieurs espèces de la section Leuce, a obtenu une corrélation positive entre la réaction des plants lors des bioessais et la sensibilité à *H. mammatum*. Il mentionne toutefois la présence d'exceptions à l'échelle du clone. L'essai de ces tests sur un grand nombre de clones permettrait peut-être d'évaluer avec plus de rigueur le potentiel de cette méthode pour effectuer un tri préliminaire de plants résistants à *H. mammatum*.

L'inoculation avec des ascospores en solution dans des extraits toxiques a permis d'induire des nécroses et d'infecter les plants. BAGGA et SMALLEY (1974) avaient obtenu les mêmes résultats dans une expérience similaire mais n'ont pas mentionné le réisolement de *H. mammatum* dans les tiges nécrosées. SCHIPPER (1978) a émis l'hypothèse que la présence de tissus nécrotiques est nécessaire pour que *H. mammatum* réussisse à infecter l'hôte et que les toxines libérées par le champignon permettent le développement de ces nécroses. Les résultats de notre étude renforcent l'hypothèse selon laquelle les métabolites toxiques produits par *H. mammatum* jouent un rôle important dans le processus d'infection. Des observations sur une plus longue période pourraient permettre de vérifier si le champignon progresse dans les tissus de la plante.

Dans nos observations microscopiques, des zones de réaction ont été détectées chez les clones résistants à *H. mammatum* (*P. alba* et *P. tremuloides* X *P. alba*) tandis qu'elles étaient absentes ou peu importantes chez les clones de *P. tremuloides*. L'accumulation de composés phénoliques dans certaines zones pourrait constituer une réaction de défense de la plante (SHIGO et MARX 1977; SHIGO 1984). De tels composés ont été détectés chez les peupliers en réaction à l'infection avec d'autres agents pathogènes (PRZYBYL 1984; RIOUX 1989). Dans notre étude, la forte coloration des cellules constituant la barrière pourrait suggérer la présence de composés du même type. Les substances présentes dans ces cellules pourraient être reliées aux glycosides trouvés dans la tige par FLORES et HUBBES (1980) en réaction à l'infection par *H. mammatum*.

Conclusion

Nous avons expérimenté trois types de tests pour la sélection de plants résistants à *H. mammatum*. Le premier test, qui consistait à inoculer du mycélium en serre démontre :

1) qu'un taux d'infection élevé peut être obtenu en serre avec cette méthode;

2) que cette technique permet de déceler des différences de sensibilité entre les espèces et les hybrides mais que des différences n'ont pu être détectées entre les quatre clones de peuplier faux-tremble après 11 semaines;

3) qu'il existe une variation dans la virulence des isolats de *H. mammatum*.

En ce qui concerne le deuxième type de tests, c'est-à-dire les bioessais avec les filtrats toxiques sur les feuilles, nos résultats indiquent que :

1) ce type de bioessai permet de déceler des différences de sensibilité aux filtrats toxiques entre les clones et les réactions des clones semblent être régies par la génétique;

2) même si le test semble peu sensible, le seul clone ayant montré une forte réaction aux toxines parmi les six clones testés correspond au clone le plus sensible à *H. mammatum* 15 mois après l'inoculation en pépinière.

Dans le troisième type de tests, qui comportait des inoculations artificielles avec des ascospores dans des filtrats toxiques et des observations microscopiques des tiges, nos travaux ont montré que :

1) les réactions relatives des clones aux extraits sur les tiges sont similaires à celles produites lors des bioessais sur les feuilles;

2) la présence de filtrats toxiques de milieu de culture a permis d'infecter les plants avec des ascospores;

3) des zones de réaction importantes se forment en réaction à l'inoculation chez les espèces et les hybrides résistants.

Avec la technique d'inoculation par du mycélium en serre, les différences entre les clones de peuplier faux-tremble semblent être plus difficiles à déceler qu'entre les espèces et hybrides. Des essais sur une plus longue période permettront d'évaluer s'il est effectivement possible avec cette méthode de sélectionner des clones résistants de peuplier faux-tremble pur.

Les bioessais avec les filtrats toxiques offrent l'avantage d'être simples, rapides et peu coûteux. Les résultats du bioessai sur un grand nombre de clones devront être comparés aux résultats d'inoculation avec du mycélium et à l'incidence naturelle de la maladie en plantation. Même si on ne peut établir un lien direct entre les réactions lors des bioessais et la sensibilité à *H. mammatum*, nous pourrons évaluer si la corrélation entre les deux est assez importante pour que cette méthode puisse permettre d'effectuer un tri préliminaire des clones comme première étape de sélection.

C'est la première fois q'on obtient une infection de plants en serre avec des ascospores, suivie du réisolement de *H. mammatum* . Des essais à plus long terme permettront d'observer si une telle méthode d'inoculation peut apporter plus de précision dans la sélection de plants résistants à *H. mammatum*, que les bioessais avec les toxines.

Cette étude a permis d'observer la formation de zones de réaction dans les plants de peuplier résistants à la suite de l'inoculation avec *H. mammatum* ou de l'application d'extraits toxiques. Dans des études ultérieures, nous pourrions comparer la réaction des plants à l'infection par *H. mammatum* avec celle induite par les blessures mécaniques ou par l'inoculation avec d'autres agents pathogènes. Ces observations ont été faites à titre exploratoire et des études plus approfondies sur le temps de formation de ces zones, leur aspect et leur histologie chez différents clones de peuplier pourront être effectuées pour tenter d'identifier si de telles zones pourraient être un facteur déterminant dans la résistance aux maladies.

Finalement, des tests clonaux devront être établis sur différents sites afin d'observer l'incidence de la maladie à long terme sur le matériel sélectionné.

D'autre part, des travaux de recherche en génétique sur la variabilité de la virulence du pathogène en relation avec sa production de métabolites toxiques, ainsi que sur la génétique de la résistance de l'hôte, permettraient de mieux comprendre les interactions hôte-pathogène qui entrent en jeu.

Bibliographie

ANDERSON, D. L. et D. W. FRENCH, 1972. *Germination of ascospores of* Hypoxylon mammatum *in living aspen.* Can. J. Bot. 50 : 1973-1974.

ANDERSON, G. W. et D. L. ANDERSON, 1968. *Relationship between density of quaking aspen and incidence of hypoxylon canker.* For. Sci. 14 : 107-112.

ANDERSON, G. W. et M. P. MARTIN, 1981. *Factors related to incidence of hypoxylon canker in aspen and survival of cankered trees.* For. Sci. 27 : 461-476.

ANDERSON, R. L., 1952. *Factors influencing the incidence of hypoxylon canker of aspen.* Phytopathology 42 : 463 (Résumé).

ANDERSON, R. L., 1964. *Hypoxylon canker impact on aspen.* Phytopathology 54 : 253-257.

ARCHAMBAULT, L., 1982. *Impact du chancre hypoxylonien sur le tremble de deux unités de gestion du Québec.* For. Chron. 58 : 139-142.

BAGGA, D. K. et E. B. SMALLEY, 1969. *Factors affecting canker development on* Populus tremuloides *artificially inoculated with* Hypoxylon prunatum. Can J. Bot. 47 : 907-914.

BAGGA, D. K. et E. B. SMALLEY, 1974. *The development of hypoxylon canker of* Populus tremuloides : *Role of ascospores, conidia and toxins.* Phytopathology 64 : 654-658.

BÉLANGER, R. R., P. D. MANION et D. H. GRIFFIN, 1989a. Hypoxylon mammatum *ascospore infection of* Populus tremuloides *clones : Effect of moisture stress in tissue culture.* Phytopathology 79 : 315-317.

BÉLANGER, R. R., S. P. FALK, P. D. MANION et D. H. GRIFFIN, 1989b. *Tissue culture and leaf spot bioassays as variables in regression models explaining* Hypoxylon mammatum *incidence on* Populus tremuloides *clones in the field.* Phytopathology 79 : 318-321.

BÉLANGER, R. R., P. D. MANION et D. H. GRIFFIN, 1990. *Amino acid content of water-stressed plantlets of* Populus tremuloides *clones in relation to clonal susceptibility to* Hypoxylon mammatum *in vitro.* Can. J. Bot. 68 : 26-29.

BENOÎT, P., G. LAFLAMME, G. BONNEAU et R. PICHER, 1982. *Insectes et maladies des arbres. Québec. 1981.* Forêt Conservation (supplément) 48(10). 23 p.

BIER, J. E., 1940. *Studies in forest pathology. III. Hypoxylon canker of poplar.* Can. Dept. of Agr. Tech. Bull. 27. 40 p.

BIER, J. E. et M. H. ROWAT, 1962. *The relation of bark moisture to the development of canker diseases caused by native, facultative parasites. VIII. Ascospore infection of* Hypoxylon pruinatum *(Klotzsche)* Cke. Can. J. Bot. 40 : 897-901.

BODO, B., D. DAVOUST, D. LECOMMANDEUR, S. REBUFFAT, I. GENETET et J. PINON, 1987. *Hymatoxin A, a diterpene sulfate phytotoxin of* Hypoxylon mammatum, *parasite of aspen.* Tetrahedron Letters 28(21) : 2355-2358.

BRUCK, R. I. et P. D. MANION, 1980a. *Interacting environmental factors associated with the incidence of hypoxylon canker on trembling aspen.* Can. J. For. Res. 10 : 17-24.

BRUCK, R. I. et P. D. MANION, 1980b. *Mammatoxin assay for genetic and environmental predisposition of aspen to cankering by* Hypoxylon mammatum. Plant. Dis. 64 : 306-308.

COPONY, J. A. et B. V. BARNES, 1974. *Clonal variation in the incidence of hypoxylon canker on trembling aspen.* Can. J. Bot. 52 : 1475-1481.

DAY, M. W. et F. C. STRONG, 1959. *A study of hypoxylon canker on aspen.* Mich. Agric. Exp. Stn. Q. Bull. 41 : 870-877.

EHRENSHAFT, M., 1980. *Multiple toxins of* Hypoxylon mammatum *for* Populus tremuloides. MS thesis. SUNY College of Environmental Science and Forestry, Syracuse, N.Y. 82 p.

FALK, S.P., D.H. GRIFFIN et P.D. MANION, 1989. *Hypoxylon canker incidence and mortality in naturally occuring aspen clones.* Plant Disease 73 : 394-397.

FLORES, G. et M. HUBBES, 1980. *The nature and role of phytoalexin produced by aspen* Populus tremuloides. Eur. J. For. Pathol. 10 : 95-103.

FRENCH, J. R. et J. H. HART, 1978. *Variation in resistance of trembling aspen to* Hypoxylon mammatum *identified by inoculating naturally occurring clones.* Phytopathology 68 : 485-490.

FRENCH, J. R. et P. D. MANION, 1976. Hypoxylon mammatum *ascospore germination and mycelial growth on bark and wood media from young branches of trembling aspen.* Can. J. Bot. 54 : 1438-1442.

FRENCH, D. W. et N. OSHIMA, 1959. *Host bark characteristics and infection by* Hypoxylon mammatum *(Klot.) Cke.* For. Sci. 5 : 255-258.

GENETET, I., J. PINON, B. BODO et S. REBUFFAT, 1989. Hypoxylon mammatum *toxins. Their nature and their role in host parasite relationships.* In : Phytotoxins and Plant Pathogenesis. NATO ASI Series, Vol. H27. Éd. A. Graniti *et al.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg : 389-391.

GRIFFIN, D. H. et P. D. MANION, 1985. *Host-pathogen interactions as measured by bioassay of metabolites produced by* Hypoxylon mammatum *with its host* Populus tremuloides. Phytopathology 75 : 674-678.

GRIFFIN, D. H., P. D. MANION, F. A. VALENTINE et L. GUSTAVSON, 1984. *Canker elongation, branch death, and callus formation as resistance or susceptibility responses in* Populus tremuloides *and virulence or avirulence characteristics of* Hypoxylon mammatum. Phytopathology 74 : 683-687.

GRIFFIN, D. H., K. QUINN et B. MCMILLEN, 1986. *Regulation of hyphal growth rate of* Hypoxylon mammatum *by amino acids : Stimulation by proline.* Exp. Mycol. 10 : 307-314.

GRUENHAGEN, R. H., 1945. Hypoxylon pruinatum *and its pathogenicity on poplar.* Phytopathology 35 : 72-89.

HUBBES, M., 1962. *Inhibition of* Hypoxylon pruinatum *by pyrocatechol isolated from bark of aspen.* Science 136 : 156.

HUBBES, M., 1964. *The invasion site of* Hypoxylon mammatum *on* Populus tremuloides. Phytopathology 54 : 896. (Résumé).

HUBBES, M., 1969. *Benzoic and salicylic acids isolated from a glycoside of aspen bark and their effect on* Hypoxylon pruinatum. Can. J. Bot. 47 : 1295-1301.

MANION, P. D., 1975. *Two infection sites of* Hypoxylon mammatum *in trembling aspen (*Populus tremuloides*).* Can. J. Bot. 53 : 2621-2624.

MANION, P. D. et D. H. GRIFFIN, 1986. *Sixty-five years of research on hypoxylon canker of aspen.* Plant Dis. 70 : 803-808.

MOSER, E. B., A. M. SAXTON et S. R. PEZESKI, 1990. *Repeated measures analysis of variance : application to tree research.* Can. J. For. Res. 20 : 524-535.

PEACOCK, H. A., 1966. Elementary microtechnique. Edward Arnold. Londres. 547 p.

PINON, J. D. 1984. *Propriétés biologiques de la toxine d'*Hypoxylon mammatum, *parasite des peupliers de la section Leuce.* Revue de Cytologie et de Biologie végétales Le Botaniste 7 : 271-277.

PINON, J. D. 1986. *Test d'inhibition de l'activité cambiale du peuplier par* Hypoxylon mammatum *: mise au point et application.* Eur. J. For. Path. 16 : 230-238.

PRZYBYL, K. 1984. *Pathological changes in defense responses in poplar tissues caused by* Ceratocystis fimbriata. Eur. J. For. Path. 14 : 183-191.

RIOPEL, J. L. 1962. *Carbowax for embedding and serial sectioning of botanical material.* Stain Technology 37 : 357-362.

RIOUX, D., 1989. *Changements structuraux et histochimiques associés à l'action d'*Ophiostoma ulmi *chez des plantes hôtes et non-hôtes.* Thèse de doctorat. Université Laval. Québec. 156 p.

ROGERS, J. D. et J. G. BERBEE, 1964. *Developmental morphology of* Hypoxylon pruinatum *in bark of quaking aspen.* Phytopathology 54 : 154-162.

SAS INSTITUTE, 1986. *SAS System for linear models.* SAS Institute, Cary, NC. 210 p.

SCHIPPER, A. L., Jr., 1978. *A* Hypoxylon mammatum *pathotoxin responsible for canker formation in quaking aspen.* Phytopathology 68 : 866-872.

SHIGO, A. L., 1984. *Compartmentalization : a conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves.* Annu. Rev. Phytopathol. 22 : 189-214.

SHIGO, A. L. et H. G. MARX, 1977. *Compartmentalization of decay in trees.* Agric. Inf. Bull. USDA For. Serv., No. 405. 73 p.

STERMER, B. A., SCHEFFER, R. P. et J. H. HART, 1984. *Isolation of toxins of* Hypoxylon mammatum *and demonstration of some toxin effects on selected clones of* Populus tremuloides. Phytopathology 74 : 654-658.

VALENTINE, F. A., P. D. MANION et K. E. MOORE, 1975. *Genetic control of resistance to hypoxylon infection and canker development in* Populus tremuloides. *In* : Proc. 12th Lake States For. Tree Improv. Conf. : 132-146.

WALKER, W. S., 1959. *A modification of the carbowax embedding technique for plant tissue.* In : Proceedings of Iowa Academy of Science, 27th session, Mount Pleasant, 17 avril 1959, 66 : 81-85. .

Annexe A

Composition de la solution nutritive pour les plants de peuplier

Composés	Concentrations (mg/l)
KNO_3	400
KH_2PO_4	200
H_3BO_3	3
$(NH_4)_6\ Mo_7O_{24}.4\ H_2O$	0,04
$MgSO_4.7\ H_2O$	500
$MnS0_4.H_2O$	1,8
$ZnSO_4.7\ H_2O$	0,3
$CuSO_4.5\ H_2O$	1,2
$Ca\ (NO_3)_2.4\ H_2O$	1200
Fer chélaté	5,2
KCl	8

Annexe B

Analyse de la variance du diamètre des nécroses mesurées sur les feuilles de six clones de peuplier faux-tremble après l'application des extraits toxiques de trois isolats de *Hypoxylon mammatum*

Source de variabilité	dl	Moyenne des carrés	Valeur de *F*	*Pr > F*
Clone	5	30,73	18,85	0,0001
Isolat	3	25,04	15,36	0,0001
Clone x Isolat	15	10,52	6,45	0,0001
Contraste				
Isolat Trécesson				
A *vs* B	1	1,87	1,15	0,2851
A *vs* C	1	5,90	3,62	0,0582
A *vs* D	1	68,35	41,92	0,0001
A *vs* E	1	6,72	4,12	0,0433
A *vs* F	1	0,43	0,26	0,6094
Isolat Lotbinière				
A *vs* B	1	1,48	0,91	0,3411
A *vs* C	1	1,45	0,89	0,3465
A *vs* D	1	106,68	65,43	0,0001
A *vs* E	1	5,80	3,56	0,0603
A *vs* F	1	2,80	1,72	0,1910
Isolat Dequen				
A *vs* B	1	1,13	0,69	0,4066
A *vs* C	1	8,76	5,37	0,0212
A *vs* D	1	38,25	23,46	0,0001
A *vs* E	1	7,15	4,39	0,0372
A *vs* F	1	3,68	2,26	0,1341
Erreur	263	1,63		

Annexe C

Analyse de la variance du diamètre des nécroses mesurées sur les feuilles de six clones de peuplier faux-tremble après l'application des extraits toxiques dissous dans l'eau de l'isolat Trécesson de *Hypoxylon mammatum*

Source de variabilité	dl	Moyenne des carrés	Valeur de *F*	*Pr > F*
Clone	5	21,61	47,27	0,0001
Contraste				
A *vs* C	1	0,30	0,66	0,4178
A *vs* D	1	59,08	130,85	0,0001
A *vs* E	1	0,69	1,52	0,2206
A *vs* F	1	0,30	0,65	0,4221
Erreur	101	0,46		

Les essences à croissance rapide sont importantes pour combler les besoins toujours croissants de matière ligneuse. À cet égard, les peupliers offrent des caractéristiques culturales particulièrement favorables. C'est pourquoi le ministère des Forêts mène un programme d'amélioration génétique de plusieurs espèces et hybrides de peuplier et doit en conséquence sélectionner des clones résistants ou tolérants aux principales maladies courantes en milieu naturel, par exemple le chancre hypoxylonien. Il a confié à sa Direction de la recherche et plus particulièrement à son Service de l'amélioration des arbres la tâche de mettre au point des techniques d'inoculation artificielle et d'évaluation précoce de la résistance ou de la tolérance à ces maladies. L'utilisation de clones plus résistants permettra de réaliser des plantations de peuplier plus en santé et donc plus productives.

ISBN 2-550-22814-6
ISSN 1183-3912
O.D.C. 165.4+232.11(047.3)(714)
L.C. SD 399.7 .P85

FQ92-3012

Gouvernement du Québec
Ministère des Forêts
Direction de la recherche